



Mesures et modelisation des effets radiobiologiques des ions legers sur des cellules tumorales humaines : application a l'hadrontherapie

P. Jalade

► To cite this version:

P. Jalade. Mesures et modelisation des effets radiobiologiques des ions legers sur des cellules tumorales humaines : application a l'hadrontherapie. Physique Nucléaire Théorique [nucl-th]. Université Claude Bernard - Lyon I, 2005. Français. NNT: . tel-00012047

HAL Id: tel-00012047

<https://theses.hal.science/tel-00012047>

Submitted on 28 Mar 2006

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



N° d'ordre 204-2005

LYCEN – T 2005-44

Thèse

présentée devant

l'Université Claude Bernard Lyon-1

pour l'obtention du

DIPLOME de DOCTORAT

(arrêté du 25 avril 2002)

par

Patrice JALADE

Mesures et modélisation des effets radiobiologiques des ions légers sur des cellules tumorales humaines : Application à l'hadronthérapie.

Soutenue le 10 novembre 2005

devant la Commission d'Examen

Jury :	M. Professeur	J. GUEULETTE	Rapporteur
	M. Professeur	B. TAMAIN	Rapporteur
	M. Professeur	J.P. GERARD	
	M. Professeur	A. DEMEYER	Directeur de thèse
	M. Docteur	M. BEUVE	
	M. Professeur	M. BOUTEMEUR	

Membre invitée :	Mme	C. GINESTET
------------------	-----	-------------



Résumé

Les caractéristiques des interactions entre les photons et la matière lors de la radiothérapie classique font que cette technique trouve ses limites dans le traitement de certaines lésions particulièrement mal situées ou extrêmement radorésistantes. Les travaux de Berkeley puis de Chiba et Darmstadt ont démontré les deux avantages des hadrons dans les applications thérapeutiques : l'efficacité biologique et la précision balistique. Comme pour tout traitement de radiothérapie les doses de rayonnements délivrées aux patients doivent être prévues de manière très précise lors de l'étape de planimétrie du traitement. La difficulté majeure dans le cas de l'hadronthérapie est justement de prendre en compte cette **Efficacité Biologique Relative** (*E.B.R.*) comparativement aux traitements utilisant les photons. Deux approches ont été développées et se distinguent dans les centres d'hadronthérapie : l'approche expérimentale de Chiba et l'approche par la modélisation développée à Darmstadt. Dans le but de comprendre et de cerner les limites du modèle d'effet local (*L.E.M.* pour *Local Effect Model*) développé au GSI (Scholz et Kraft 1994), les travaux présentés dans cette thèse ont consisté à reprogrammer le modèle *L.E.M.* à l'Institut de Physique Nucléaire de Lyon (IPNL), à caractériser les paramètres d'influences mais également à apporter certaines modifications à ce modèle. La notion de localité, du dépôt de dose et des événements létaux a notamment été développée et discutée par l'introduction d'une pixélisation de dimensions variables. Cette étude a permis de comprendre quels étaient les impacts des ions qui apportaient une forte contribution en dose ou en événements létaux au niveau d'un pixel. Nous avons ainsi démontré que le différentiel d'effet entre les photons et les ions était d'autant plus marqué que le rapport $2\beta D_{seuil}/\alpha$ était grand. Il apparaît cependant que la pixélisation ne semble avoir que peu d'effet si la dimension du pixel reste raisonnable ($10nm \times 10nm$). Ces résultats sur l'étude et la compréhension des mécanismes fins de ce modèle *L.E.M.* ont ensuite été validés expérimentalement *in-vitro* à l'aide de cellules tumorales humaines. Cette validation a nécessité la mise en place d'un protocole rigoureux de dosimétrie au Grand Accélérateur National d'Ions Lourds (GANIL, Caen). Les résultats obtenus ont démontré qu'en fonction des paramètres des différentes courbes de survie en R-X, les résultats des simulations n'étaient pas toujours en accord avec les courbes obtenues expérimentalement. En conclusion, il semble évident que la détermination de la létalité des cellules cancéreuses et saines et de leur *E.B.R.* sont des étapes incontournables avant le traitement des patients. Nos travaux illustrent parfaitement le fait qu'une approche expérimentale *in-vitro* est nécessaire même si elle doit être suivie d'une expérimentation *in-vivo*, plus proche des conditions de la clinique.

Le travail présenté dans ce manuscrit a été réalisé à l'Institut de Physique Nucléaire de Lyon, dans le cadre du projet ETOILE initié par Joseph Rémillieux et Jean Pierre Gerard en 1997. Je tiens à les remercier de m'avoir intégré à ce formidable projet.

Je remercie les Professeurs John Gueulette et Bernard Tamain d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse et le Professeur Jean Pierre Gérard d'avoir accepté de participer à ce jury.

Je remercie tout particulièrement le Professeur Albert Demeyer d'avoir accepté la direction scientifique de cette thèse. Sa franchise, ses critiques et nos discussions, parfois animées, m'ont été très appréciables. Nous avons débuté nos travaux sur le projet ETOILE ensemble et c'est toujours ensemble que nous avons cherché les premiers collaborateurs dans les domaines de la physique et de la biologie. Sa tenacité et sa volonté ont permis à ces collaborations d'être fructueuses et durables. Je le remercie également très sincèrement pour son indéfectible soutien pendant les nuits de manip au GANIL... et aussi pour les casse croûte bien arrosés!!!.

Je tiens à remercier très chaleureusement le Docteur Mickaël Beuve qui a beaucoup participé à ce travail de recherche. J'aimerais lui exprimer toute ma reconnaissance pour l'intérêt qu'il a porté à ces travaux et pour ses conseils qui m'ont permis de mener à bien cette thèse. Sa gentillesse et sa rigueur scientifique m'ont été bien souvent d'un grand secours.

J'exprime une profonde reconnaissance au Professeur Madjid Boutemour, pour toutes nos discussions, scientifiques ou non, pour ses conseils dans les phases clefs de mon travail et pour la confiance qu'il m'a accordé.

J'exprime ma gratitude à Joseph Rémillieux et Joël Rochat pour le financement de ce travail dans le cadre du projet ETOILE et pour leurs conseils très enrichissants tout au long de cette thèse.

Mes remerciements vont également à Maxime Durot, brillant polytechnicien, qui a beaucoup contribué aux travaux de programmation informatique.

Je remercie également le Professeur Claire Rodriguez-Lafrasse, responsable de l'unité de radiobiologie de l'EA 3738 d'avoir accepté de collaborer à nos travaux dès 2002. J'exprime mes remerciements à toutes les personnes qui ont travaillé au sein de l'unité EA 3738 dans le cadre de cette collaboration, en particulier Gersende Alphonse, Jacques et Seléna Bodennec, Christophe Badie et Clara Bionda.

Je remercie Béatrice Burdin et l'ensemble des membres du laboratoire de microscopie de la Doua ainsi

que tous les personnels du GANIL pour leur accueil, leur disponibilité et leur compétence.

Je remercie le Docteur Pascale Romestaing, chef du service de radiothérapie-curiethérapie au Centre Hospitalier Lyon-Sud pour m'avoir fait confiance en tant que radiophysicien, pour avoir accepté le fait que je ne travaille qu'à mi-temps pendant la durée de cette thèse. J'exprime ma gratitude envers tous les médecins du service pour leur soutien et leur patience.

J'exprime ma plus grande reconnaissance à mes collègues de travail et amis, physiciens du service de radiothérapie-curiethérapie, Mustapha Khodri, Marie Pierre Sotton, Dominique Corsetti et Christelle Jammal pour leur patience, leur soutien, et pour tous les efforts consentis pendant la durée de ces travaux de recherche à l'université. Qu'ils soient ici chaleureusement remerciés.

J'adresse également mes vifs remerciements aux autres membres de l'équipe de physique, Laurent Brosat, Arnaud Ruillière et Cédric Sengler pour leur soutien et leur amitié. Je remercie très sincèrement l'ensemble des manipulatrices d'électroradiologie du service de radiothérapie pour leur patience à mon égard dans les moments difficiles.

Je remercie également Guillaume Largeron et Pascal Pommier avec qui j'ai partagé notre splendide bureau¹.

Je tiens tout particulièrement à remercier mes parents, mes frères, ainsi que toute ma famille et mes amis pour m'avoir encouragé et soutenu afin que cette thèse puisse aboutir.

Je tiens enfin à adresser mes sincères remerciements et même plus... à Gersende, qui a été d'une patience admirable et qui m'a beaucoup aidé dans ce travail.

¹en fait un aquarium sans fenêtre... mais avec quelques hublots

Table des matières

Résumé	v
	vii
INTRODUCTION	2
1 Rappels sur l'interaction des rayonnements avec la matière	7
1.1 Introduction	7
1.2 Interactions des photons avec la matière	7
1.2.1 La diffusion cohérente de Rayleigh	7
1.2.2 L'effet photoélectrique	8
1.2.3 L'effet Compton	9
1.2.4 La production de paires ou effet de matérialisation	10
1.2.5 Domaine de prédominance de ces différents effets	11
1.2.6 Loi d'atténuation des rayonnements électromagnétiques dans un milieu	11
1.3 Interactions des particules chargées avec la matière	17
1.3.1 Préambule sur le caractère statistique de la perte d'énergie d'une particule chargée dans la matière.	17
1.3.2 Cas des électrons	19
1.3.3 Cas des particules chargées lourdes	20
1.3.4 Ralentissement d'un faisceau de particules lourdes chargées dans la matière	24
1.4 Cas des neutrons	33
1.5 Conclusion	34
1.6 Cas des ions : La fragmentation nucléaire	34
2 Dosimétrie : métrologie de la dose absorbée en photonthérapie et en hadronthérapie	35
2.1 Généralités et grandeurs utilisées en dosimétrie	35
2.1.1 Contrôle en temps réel	36
2.1.2 Contrôle à postériori	36

2.2	Mesure de la dose à l'aide de détecteur plastique CR39	36
2.2.1	Composition	37
2.2.2	Principes	37
2.2.3	Attaque chimique	38
2.2.4	Comptage automatique : le Scanning	39
2.3	Mesure de la dose par chambre d'ionisation	40
2.3.1	La théorie du détecteur idéal de Bragg Gray.	40
2.3.2	Principe de fonctionnement de la chambre d'ionisation.	41
2.3.3	Réponse d'une chambre d'ionisation	42
2.3.4	Les critères de choix d'une chambre d'ionisation	43
2.3.5	Rappel des notations utilisées	43
2.4	Détermination de la dose absorbée dans les faisceaux de photons.	44
2.4.1	Grandeurs et unités applicables aux rayonnements ionisants.	44
2.4.2	Spécification de la qualité d'un faisceau de rayonnement	45
2.4.3	Géométrie de l'irradiation.	46
2.4.4	Le coefficient d'étalonnage de la chaîne de mesure.	47
2.4.5	Détermination de la dose absolue dans le faisceau de routine	49
2.5	Détermination de la dose absorbée dans les faisceaux de particules lourdes chargées	52
2.6	Mesure de la dose par films radiographiques	54
2.6.1	Matériel pour la dosimétrie par films	54
3	Description des effets biologiques des rayonnements ionisants	61
3.1	Rappel sur la structure des molécules d'ADN	61
3.2	Rappel sur le cycle cellulaire	62
3.3	Processus d'endommagement	63
3.3.1	Effet direct des rayonnements ionisants	64
3.3.2	Effet indirect des rayonnements.	64
3.4	Localisation des lésions	71
3.4.1	Lésions au niveau nucléaire	71
3.4.2	Lésions au niveau du cytoplasme	77
3.4.3	Lésions au niveau membranaire	78
3.4.4	Cas de l'effet bystander	79
3.4.5	Influence de la nature du rayonnement et de la nature des lésions	79
3.5	Les principaux processus de réparation	81
3.5.1	Excision-resynthèse	81
3.5.2	Recombinaison post-réplivative	82
3.6	La mort cellulaire	82

3.6.1	Aberrations chromosomiques et mort cellulaires	83
3.6.2	Différents types de mort cellulaires	84
3.7	Conclusions	85
4	Mesures de la mort cellulaire	87
4.1	Introduction	87
4.2	Les courbes de survie cellulaire	87
4.2.1	Réalisation des courbes de survie cellulaires <i>in-vitro</i>	88
4.3	Principaux types de courbes de survie observées	90
4.3.1	Courbe de survie représentée par une exponentielle	90
4.3.2	Courbe de survie présentant un épaulement	92
4.3.3	Les facteurs d'influence sur la survie cellulaire	98
4.4	Cas particulier des courbes de survie observées avec les particules de haut LET	103
4.5	Conclusions	105
5	Application des modèles de traces en radiobiologie	107
5.1	Introduction	107
5.2	Le modèle de Katz	107
5.2.1	Le mode " <i>ion-kill</i> "	108
5.2.2	Le mode " <i>γ-kill</i> "	109
5.2.3	Somme des deux modes	109
5.3	Le modèle d'effet local, <i>L.E.M.</i> , de Scholz et Kraft	110
5.3.1	Description	110
5.3.2	Résultats	116
5.4	Discussion	118
6	Modélisation de la survie cellulaire : notre approche, une variante du <i>L.E.M.</i>	123
6.1	Principes du modèle	123
6.1.1	Introduction d'une limite dans la notion de localité	123
6.2	Implémentation d'une simulation Monté Carlo	124
6.2.1	Structure du programme	125
6.2.2	Exécution du programme	125
6.2.3	Taux de survie cellulaire de la cellule par pulse	128
6.2.4	Traitement statistique des résultats	128
6.2.5	Les principales difficultés	129
6.2.6	Validation des procédures	130
6.3	Etude du modèle <i>L.E.M.</i> : Aspects théoriques	131
6.3.1	Quelques tendances déduites d'une approximation analytique	132

6.3.2	Influence de D_{seuil}	134
6.4	Paramètres influant la formation locale d'événements létaux	135
6.4.1	Introduction : Définition de quelques grandeurs	135
6.4.2	Discussion de la notion de localité	139
6.4.3	Evènements létaux et paramètre d'impact	143
6.4.4	Influence des paramètres (α / β) et D_{seuil} sur la densité moyenne d'événements létaux dans le pixel	151
6.5	Conclusions de l'étude théorique	153
6.6	Etude du modèle $L.E.M.$: Validation par des simulations	154
6.6.1	Influence du rayon nucléaire : R_n	154
6.6.2	Influence de la dose seuil : D_{seuil}	155
6.6.3	Influence des paramètres α et β	156
6.6.4	Effet de la pixelisation	159
6.6.5	Effet de la modélisation de la trace de l'ion	160
7	Validation expérimentale	165
7.1	Introduction	165
7.2	Les lignées cellulaires	166
7.3	Entretien des lignées cellulaires	166
7.4	Détermination de la taille moyenne des noyaux cellulaires.	166
7.4.1	Fixation des cellules pour la microscopie confocale	167
7.4.2	Mesure de la surface nucléaire d'un échantillon de cellules	168
7.5	Courbes de survie photons : Le protocole expérimental.	169
7.5.1	Préparation et comptage des cellules	169
7.6	Courbes de survie avec les particules de haut $T.E.L.$	173
7.6.1	Le GANIL	173
7.6.2	Contrôles dosimétriques	176
7.6.3	Protocole de mesure des survies	177
7.7	Résultats	180
7.7.1	Etudes dosimétriques	180
7.7.2	Conclusion des expériences de dosimétrie	191
7.7.3	Courbes de survie cellulaire	191
	DISCUSSION-CONCLUSION	207
	Références bibliographiques	212

Annexes	218
A Modèle statistique pour évaluer le phénomène d'adhérence des cellules	221
A.1 Hypothèses	221
A.2 Estimation expérimentale de p	221
A.3 Minimisation de $\sigma(Y)$	222
A.4 Cas des cellules irradiées	224
A.4.1 Prise en compte de l'effet Feeder	225

Table des figures

1.1	Effet photoélectrique	8
1.2	Transition radiative	9
1.3	Transition Auger	9
1.4	Effet compton	10
1.5	Effet production de paires	11
1.6	Domaine de prédominance des différents effets	12
1.7	coefficient massique d'atténuation	15
1.8	Dépot de dose en profondeur dans l'eau	16
1.9	Interaction particules chargées-matière	17
1.10	Distribution en énergie (a) et angulaire (b) avant l'interaction	17
1.11	Distribution en énergie (a) et angulaire (b) après l'interaction	18
1.12	Dépôt d'énergie dans l'eau par les électrons	20
1.13	Sections efficaces des trois processus d'interaction en fonction de l'énergie du projectile pour une collision proton sur hydrogène	23
1.14	Pertes d'énergie, d'origines électronique et nucléaire, calculées pour des ions carbone dans l'eau	25
1.15	Pertes d'énergie électronique et parcours calculées pour un ion carbone dans l'eau	26
1.16	Diminution de la largeur de la trace en fin de parcours	27
1.17	Distribution radiale de dose de Waligorski	30
1.18	Distribution radiale de dose proposée par Kraft et Waligorski	32
1.19	Distribution radiale de dose proposée par Kraft et Waligorski	32
1.20	Distribution radiale de dose proposée par Kraft et Waligorski	33
1.21	Distribution de dose en profondeur dans l'eau	33
2.1	Composition du détecteur plastique <i>CR 39</i>	37
2.2	Ions Argon $95MeV/u$ à différentes fluences	38
2.3	Principe du détecteur de Bragg-Gray	41
2.4	Schéma de principe d'une chambre d'ionisation cylindrique	42

2.5	Condition de mesure de l'indice de qualité d'un faisceau de photons de hautes énergies . .	46
2.6	(a) Condition de référence si $I \leq 0.7$ et (b) Condition de référence si $I > 0.7$	47
2.7	Illustration du déplacement radial du point effectif de mesure	51
2.8	Principe du développeur automatique	55
2.9	Courbe de réponse caractéristique des films X-OMATV	56
2.10	Schéma de principe du numériseur VIDAR VXR12	57
2.11	Coin photographique étalon	57
3.1	Schéma d'un fragment d'ADN	61
3.2	Les quatre phases du cycle cellulaire et le stade G0	62
3.3	Effets directs et indirects des radiations ionisantes	63
3.4	Chronologie des événements survenant après une irradiation	64
3.5	Effet indirect des rayonnements ionisants sur la molécule d'ADN	65
3.6	La radiolyse de l'eau	66
3.7	Représentation schématique de la double chaîne d'ADN	71
3.8	Représentation schématique d'une rupture simple brin de l'ADN	71
3.9	Représentation schématique d'une rupture double brin de l'ADN	72
3.10	Représentation schématique de la lésion d'une base	72
3.11	Représentation schématique de la perte d'une base	73
3.12	Représentation schématique de la lésion d'un sucre	73
3.13	Représentation schématique d'un pontage intrabrin	74
3.14	Représentation schématique d'un pontage interbrin	74
3.15	Représentation schématique d'un pontage ADN protéine	74
3.16	Représentation d'un chromosome	75
3.17	Anomalies intrachromosomiques	76
3.18	Anomalies interchromosomiques	77
3.19	Anomalies chromatidiques	77
3.20	Mécanisme de l'excision-resynthèse	81
3.21	Recombinaison post-réplivative	82
3.22	Chronologie des événements intervenant en réponse aux radiations ionisantes	83
4.1	Effet d'une irradiation sur la clonogénicité des cellules	89
4.2	Courbe de survie de type exponentielle en coordonnées semi-logarithmique	91
4.3	Courbe de survie présentant un épaulement	93
4.4	Courbes de survie suivant le modèle de n cibles à 1 coup	94
4.5	Le modèle quadratique	95
4.6	Le modèle linéaire quadratique	96

4.7	Modèle d'une cible à 1 coup et de n cibles à 1 coup	97
4.8	Interprétation de la courbe de survie par la réparation cellulaire :(a) courbe de survie, (b) taux de réparation en fonction de la dose absorbée	98
4.9	Effet du fractionnement de la dose sur la survie cellulaire	99
4.10	Effet de la position dans le cycle cellulaire sur la survie	100
4.11	Influence de l'étoposide VP16 sur les courbes de survie cellulaire	101
4.12	Influence de l'oxygène sur les courbes de survie cellulaire	102
4.13	Influence du <i>T.E.L.</i> sur les courbes de survie cellulaire	103
4.14	Courbes de survie comparées pour les neutrons et les γ	104
5.1	Ajustement des courbes de survie photons dans le modèle de Scholz et al.	112
5.2	La configuration d'un pulse dans le modèle de Scholz et al.	115
5.3	Représentation de la distribution radiale de dose dans le modèle de Scholz et al.	115
5.4	Représentation géométrique de la simulation	116
5.5	Résultats des simulations numériques et résultats expérimentaux	117
5.6	Evolution de l' <i>E.B.R.</i> , calculé avec le modèle <i>L.E.M.</i> , en fonction du <i>T.E.L.</i> des particules	118
6.1	Taux de survie de cellules CHO exposées à des ions carbone de 11 MeV/u	131
6.2	Courbes de survie avec les mêmes paramètres α et β et pour différentes D_{seuil}	131
6.3	Distribution de dose radiale simplifiée dans le cas des ions de très faibles vitesses	132
6.4	Noyau cellulaire(en grisé) et distribution de dose radiale simplifiée	133
6.5	Schéma de principe de l'étude restreinte à un seul pixel	136
6.6	Dose moyenne exprimée en Gy dans un pixel en fonction du paramètre d'impact	137
6.7	(a) Distribution de dose locale en Gy dans un pixel et (b) dose pondérée en $Gy \times \mu m^2$	138
6.8	En fonction du paramètre d'impact, on représente en (a) la densité d'événements létaux et en (b) la densité d'événements létaux pondérée dans un pixel	139
6.9	effet de la pixélisation sur la distribution de dose locale et sur la contribution en dose locale	140
6.10	effet de la dimension du pixel, sur la densité d'événements létaux pondérée, en fonction de la charge des ions	142
6.11	effet de la dimension du pixel, sur la densité d'événements létaux pondérée, en fonction de la charge des ions	142
6.12	effet de la dimension du pixel, sur la densité d'événements létaux pondérée, en fonction de la charge des ions	143
6.13	Dose pondérée dans un pixel en fonction de la distance ion-pixel	143
6.14	Influence des dimensions du noyau cellulaire	155
6.15	Influence du paramètre D_{seuil} sur la section efficace de survie au faible dose	156
6.16	Evolution de la section efficace en fonction de l'évolution de β	157

6.17	Evolution de la section efficace en fonction de l'évolution de α	158
6.18	Evolution de la section efficace en fonction de la dimension du pixel pour des protons et des carbones de différentes énergies	160
7.1	Schéma de principe d'un microscope confocal	167
7.2	Histogramme des rayons nucléaires mesurés	168
7.3	Histogramme des rayons nucléaires mesurés	169
7.4	Irradiation en photons	172
7.5	Le Grand Accélérateur National d'Ions Lourds implanté à Caen	174
7.6	L'aire d'expérience D1 du GANIL	175
7.7	Dipositifs de dosimétrie	176
7.8	Dipositifs de dosimétrie	176
7.9	Profileur à gaz	177
7.10	Dose monitorée par le détecteur X et dose calculée à l'aide de détecteurs de traces	181
7.11	Dose déterminée par chambre d'ionisations et dose calculée à l'aide de détecteurs de traces	182
7.12	Calibration en dose des films X-OMATV	183
7.13	Contrôle de l'homogénéité du faisceau d'Ar à 95 MeV/u par films radiographiques	184
7.14	Contrôle de la dose déposée sur les échantillons biologiques	185
7.15	Etude de la réponse du détecteur X en fonction du débit de dose	186
7.16	Réponse, en coups par seconde, associée au détecteur X en fonction du débit de dose . . .	187
7.17	Etude de la réponse des films radiographiques EDR 2 et X-OMAT V en fonction de la dose	188
7.18	Montage expérimental dans la salle G4	189
7.19	Distribution de la dose en salle G4	189
7.20	Profils de dose en salle G4 obtenus par numérisation des films X-OMAT V	190
7.21	Profils de dose en salle G4 obtenus par numérisation des films X-OMAT V	191
7.22	Courbes de survie photons, mesurées avec des cellules SCC61	192
7.23	Courbes de survie des cellules SCC61 avec ajustement polynomial d'ordre 2	193
7.24	Courbes de survie des cellules SCC61 avec ajustement polynomial d'ordre 2	194
7.25	Courbes de survie des cellules SCC61 avec ajustement polynomial d'ordre 2	195
7.26	Courbes de survie des cellules SCC61 déterminées au GSI avec ajustement polynomial d'ordre 2	196
7.27	Courbes de survie des cellules SQ 20B avec ajustement polynomial d'ordre 2	197
7.28	Points expérimentaux d'une deuxième expérience de survie cellulaire SQ 20B	197
7.29	Courbes de survie des cellules SQ 20B avec ajustement polynomial d'ordre 2	198
7.30	Courbes de survie des cellules SQ 20B, réalisées au GSI, avec ajustement polynomial d'ordre 2	198
7.31	Courbes de survie des cellules SQ 20B avec les ions Carbone de 9.8 MeV/u	200
7.32	Courbes de survie des cellules SCC 61 avec les ions Carbone de 9.8 MeV/u	200

7.33	Courbes de survie des cellules SQ 20B avec les ions Carbone de 9.8 MeV/u	201
7.34	Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SQ 20B avec les ions Carbone de 75 MeV/u	202
7.35	Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SCC 61 avec les ions Carbone de 75 MeV/u	203
7.36	Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SQ 20B avec les ions Argon de 95 MeV/u	204
7.37	Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SCC 61 avec les ions Argon de 95 MeV/u	204
7.38	Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SQ 20B avec les ions Argon de 95 MeV/u	205
7.39	Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SCC 61 avec les ions Argon de 95 MeV/u	206

Liste des tableaux

1.1	Valeur des coefficients linéiques d'atténuation et des couches de demi-atténuation pour divers matériaux	13
1.2	Valeurs des coefficients linéiques d'atténuation et du parcours projeté, R_p des électrons dans divers matériaux et pour différentes énergies	20
1.3	Valeurs des rayons maximal d'action, R_{max} , relatifs à la portée maximale des électrons mis en mouvement par des ions carbone de différentes énergies et pour deux modèles : Kraft et Waligorsky	32
3.1	Nature et nombre de lésions de l'ADN par cellule et par Gy	75
3.2	Comparaison des effets des radiations à faible et fort $T.E.L.$ par Gy et par cellule	80
3.3	Réparation des cassures doubles brin en fonction du $T.E.L.$	80
6.1	Taux de survie pour plusieurs doses d'irradiation aux ions carbone de 11 MeV/u	130
6.2	fraction, de la dose pondérée et des densité d'événements létaux , calculées pour 3 critères en dose et 2 critères en paramètre d'impact	146
6.3	fraction, de la dose pondérée et des densité d'événements létaux , calculées pour 3 critères en dose et 2 critères en paramètre d'impact	146
6.4	fraction, de la dose pondérée et des densité d'événements létaux , calculées pour 3 critères en dose et 2 critères en paramètre d'impact	147
6.5	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	147
6.6	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	147
6.7	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	148
6.8	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	148

6.9	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	148
6.10	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	149
6.11	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	149
6.12	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	149
6.13	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	150
6.14	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	150
6.15	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	150
6.16	fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$	151
6.17	Influence de (α / β) pour des ions de 30 MeV/u	152
6.18	Influence de D_{seuil} pour des ions H, C et Ar de 30 MeV/u	152
6.19	Evolution de la section efficace d'inactivation en fonction des paramètres α et β	159
6.20	Comparaison des Taux de survie cellulaire	161
6.21	Dose calculée dans le noyau et taux de survie cellulaire avec ou sans prise en compte de R_{limite}	161
7.1	Ensemencement des cellules SCC61 et SQ20B, en fonction de la dose, pour la réalisation des courbes de survie photons	171
7.2	Ensemencement des cellules SCC61 et SQ20B, en fonction de la dose.	173
7.3	Ensemencement des cellules SCC61 et SQ20B, en fonction de la dose, pour la courbe de survie avec les ions carbone de 9.8 MeV/u	178
7.4	Ensemencement des cellules SCC61 et SQ20B, en fonction de la dose, pour la courbe de survie avec les ions carbone de 75 MeV/u	179
7.5	Ensemencement des cellules SCC61 et SQ20B, en fonction de la dose, pour la courbe de survie avec les ions Argon de 95 MeV/u	179

INTRODUCTION

La radiothérapie dans un sens large est le traitement des lésions cancéreuses ou non par rayonnement ionisant : elle regroupe les activités de radiothérapie externe et de curiethérapie. La curiethérapie concerne l'ensemble des techniques de traitements au cours desquelles une ou plusieurs sources radioactives sont placées au contact, ou à proximité de la lésion. La radiothérapie externe, qui consiste à diriger des faisceaux de rayonnement vers un volume cible, est à l'heure actuelle largement constituée par la photonthérapie et l'électronthérapie. Deux tiers des personnes souffrant de cancers seront en effet pris en charge par radiothérapie et on estime que ces techniques participent à 50 % des traitements à visée curative en phase initiale. Cependant, comme nous le présenterons au début de cette thèse, les caractéristiques des interactions entre les photons ou les électrons et la matière font que ces techniques, dites conventionnelles, trouvent leurs limites dans le traitement de certaines lésions particulièrement mal situées ou extrêmement radiorésistantes. Mais des alternatives existent !.

Les premiers traitements par neutronthérapie ont été réalisés par l'équipe d'Ernesto Lawrence à Berkeley durant les années 1940 (Lawrence et Sloan 1931). Cependant, R.S. Stone rapporte qu'une grande partie de ces traitements ont induit de graves effets tardifs (Stone 1948). La méconnaissance des effets biologiques de ces particules sur les tissus, responsable de ces premiers échecs, conduira à la naissance et au développement de la radiobiologie avec les particules de haut transfert d'énergie linéique (*T.E.L.*). L'hadronthérapie pionnière de Berkeley ne s'est pas limitée à la neutronthérapie puisque dès 1954 les protons puis les ions encore plus lourds comme l'hélium ont été utilisés à des fins thérapeutiques. Près de 4000 patients ont ainsi été traités par hadronthérapie sur le site de Berkeley. Ces premières applications cliniques ouvrent une voie nouvelle dans les traitements de cancers en pointant deux avantages des hadrons : l'efficacité biologique relative et la précision balistique.

Les travaux de Berkeley ont trouvé un écho au Japon (Chiba) où un centre d'hadronthérapie est ouvert depuis 1994. En Europe, plus précisément au GSI de Darmstadt (Allemagne), sous l'impulsion du Pr G. Kraft une équipe de recherche a développé une voie de faisceaux pour le traitement des cancers radiorésistants démontrant les avantages des ions carbone pour l'hadronthérapie. Les travaux de l'Europe dans ce domaine se sont structurés dans le réseau ENLIGHT (Européan Network for LIGHT ion Therapy) autour de 5 grands projets de construction de centres d'hadronthérapie dont le projet français ETOILE qui a supporté mon travail de thèse. Ceux-ci concernent la mesure et la modélisation de la survie cellulaire

in-vitro avec les particules de haut *T.E.L.* . L’objectif de ces recherches portait sur l’étude et l’évaluation d’un modèle de traces permettant de prédire les effets biologiques des hadrons sur des cellules. Parmi les effets biologiques observables nous avons retenu la détermination des courbes de survie (représentant la survie des cellules en fonction de la dose délivrée). Deux approches ont été explorées :

- une approche théorique comportant l’analyse et l’évaluation du modèle suivant certains paramètres,
- une approche expérimentale de détermination des courbes de survie avec différents faisceaux d’ions.

La première partie de la thèse constitue un ensemble de rappels bibliographiques et de bases théoriques nécessaires pour la compréhension du sujet. Les éléments de radiobiologie menant à l’étude des courbes de survie sont également rapportés.

La deuxième partie de la thèse porte sur l’étude et la réalisation d’un “modèle d’effet local” basé sur les travaux de Scholz et al (Scholz et Kraft 1992). L’étude du modèle met en évidence les effets des différents paramètres d’entrée qui sont ensuite quantifiés par des simulations numériques.

La troisième partie est consacrée à la confrontation des prédictions du modèle aux mesures expérimentales *in-vitro* que nous avons effectuées au Grand Accélérateur National d’Ions Lourds à Caen avec des ions Carbone et Argon. Des résultats obtenus au GSI, aussi avec des ions carbone, sont également présentés. Cette confrontation montre l’intérêt et les limites de ce type de modèle local pour la prédiction des effets radiobiologiques des ions légers en hadronthérapie.

Bases théoriques et rappels bibliographiques

Chapitre 1

Rappels sur l'interaction des rayonnements avec la matière

1.1 Introduction

Un rayonnement est dit ionisant s'il transporte une énergie suffisante pour ioniser un atome ou une molécule. Cette énergie minimale est d'environ 10 eV. Ces rayonnements, en cédant leur énergie, ont la propriété de provoquer des ionisations et des excitations atomiques dans le milieu matériel qu'ils pénètrent. Mais on peut également observer des phénomènes de diffusions des rayonnements par les atomes ou les molécules sans pour cela assister à aucune ionisation.

1.2 Interactions des photons avec la matière

1.2.1 La diffusion cohérente de Rayleigh

Toute l'énergie du photon incident peut être diffusée sans qu'aucune particule secondaire ne soit mise en mouvement dans le milieu traversé. La probabilité de cet effet, appelé effet Rayleigh, diminue rapidement lorsque l'énergie du photon augmente jusqu'à devenir négligeable dans les matériaux légers pour des énergies de l'ordre de 100 keV. D'une manière plus générale, la probabilité de cet effet varie sensiblement avec le carré de la charge de l'atome cible. Puisque la diffusion des photons se produit principalement vers l'avant, celle-ci a pour effet principal d'augmenter la dispersion angulaire du faisceau incident.

1.2.2 L'effet photoélectrique

L'effet photoélectrique, représenté par la figure 1.1, résulte du transfert de la totalité de l'énergie du photon incident sur un électron des couches K, L, M ou N de l'un des atomes de la cible. Le photo-électron est éjecté de son orbitale avec une énergie cinétique initiale égale à :

$$T_{e-} = h\nu_0 - E_l \quad (1.1)$$

Où $h\nu_0$ est l'énergie du photon incident et E_l est l'énergie de liaison de l'électron à l'atome pour une orbitale donnée.

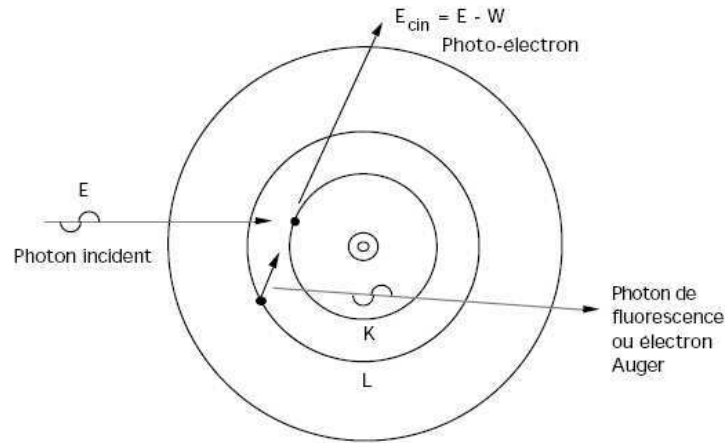


FIG. 1.1 – Effet photoélectrique. Interaction d'un photon par effet photoélectrique

L'atome se trouve alors dans un état excité et son retour dans l'état fondamental peut se faire par deux processus.

- Le mode de désexcitation radiatif correspond à l'émission d'un rayonnement de fluorescence, dont le spectre de raies discontinu est caractéristique du matériau cible.
- Le mode de désexcitation non radiatif ou électronique est également connu sous le nom "d'effet Auger" (Auger 1924).

La désexcitation non radiative est prépondérante dans le cas d'atomes cibles légers (C, N, O) qui subissent principalement des photo-ionisations en couche K et deviennent donc émetteur d'électrons Auger. Puisqu'une vacance électronique initialement produite par le photon incident conduit à deux nouvelles vacances électroniques qui à leur tour peuvent en produire autant, toute une cascade électronique peut être produite selon des probabilités tabulées. L'atome est finalement laissé dans un état de multiples ionisations.

L'effet photoélectrique est prédominant à basse énergie (énergies inférieures à 100 keV) et dans des matériaux à numéro atomique élevé. La désexcitation par effet Auger est prédominante dans les matériaux légers (de charge inférieure à 20). Dans les matériaux lourds (de charge supérieure à 50), la fluorescence

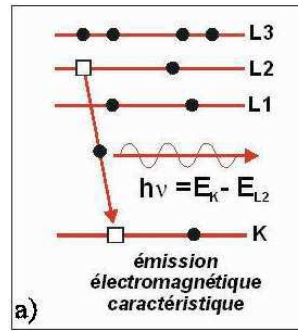


FIG. 1.2 – Transition radiative. Désexcitation de l'atome par émission d'un photon de fluorescence

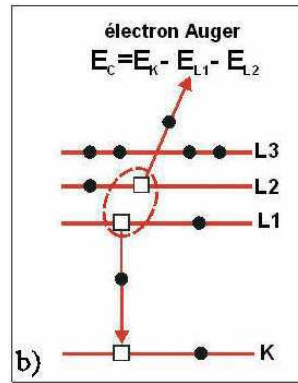


FIG. 1.3 – Transition Auger. Désexcitation de l'atome par transition Auger

est le mode majoritaire de désexcitation. La figure 1.1 représente l'interaction d'un photon avec un atome par effet photoélectrique. Le réarrangement du cortège électronique par fluorescence ou effet Auger est schématisé par les figures 1.2 et 1.3.

1.2.3 L'effet Compton

L'effet Compton, représenté par la figure 1.4, résulte de l'interaction entre un photon incident d'énergie E_ν et un électron libre ou faiblement lié de la cible, dont l'énergie de liaison et l'énergie cinétique sont négligeables devant E_ν . Au cours de cette interaction qui peut être décrite comme une collision, l'électron, dit électron Compton, acquiert une énergie cinétique E_e et un photon diffusé, dit photon de recul, est émis avec l'énergie $h\nu'$ dans une direction faisant un angle θ avec la direction du photon incident.

La conservation de l'énergie entraîne que :

$$h\nu = E_e + h\nu' \quad (1.2)$$

Les énergies E_e (emportée par l'électron Compton) et $h\nu'$ (emportée par le photon diffusé) obéissent aux relations suivantes, dites formules de Compton :

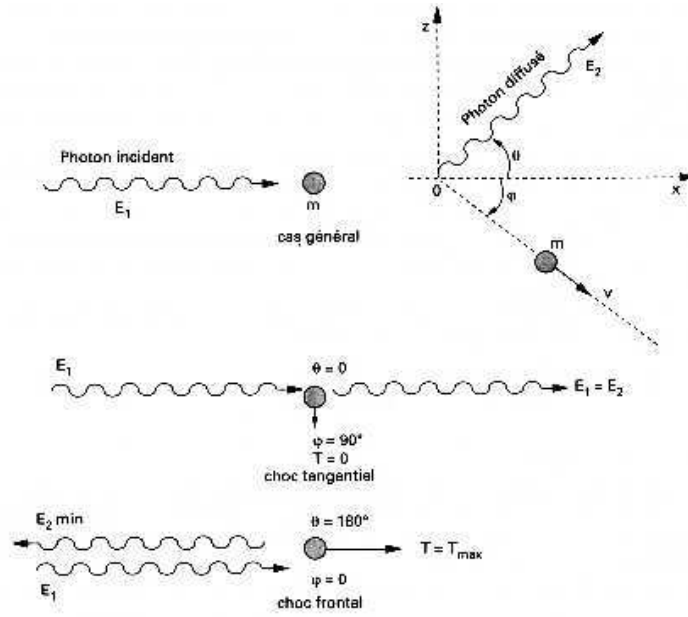


FIG. 1.4 – Effet compton. Interaction d'un photon par effet Compton

$$E_e = h\nu_0 \frac{\frac{h\nu_0}{m_0 c^2} (1 - \cos\theta)}{1 + \frac{h\nu_0}{m_0 c^2} (1 - \cos\theta)} \quad (1.3)$$

Et

$$h\nu' = \frac{h\nu_0}{1 + \frac{h\nu_0}{m_0 c^2} (1 - \cos\theta)} \quad (1.4)$$

La proportion de l'énergie E_e emportée par l'électron Compton est d'autant plus grande que l'énergie du photon incident est élevée.

Cet effet est prépondérant dans les matériaux dits légers, équivalent-eau (Z faible). Il domine également les processus d'interaction des photons d'énergie comprise entre 0,2 et quelques MeV, quelque soit le numéro atomique du matériau traversé. La probabilité d'apparition de cette diffusion diminue lorsque l'énergie du photon augmente et varie peu avec le Z de l'absorbant. La formule de Klein et Nishina (John 1953), que nous ne détaillerons pas, donne la section efficace différentielle (par unité d'angle solide) d'interaction Compton.

1.2.4 La production de paires ou effet de matérialisation

Ce processus se produit pour des photons très énergétiques passant à proximité d'un noyau : le photon incident se matérialise sous la forme d'un électron et d'un positon de même masse et de même énergie cinétique. Pour que cette matérialisation soit possible, il faut que l'énergie du photon $h\nu_0$ soit supérieure ou égale à 1,02 MeV, énergie correspondant à l'énergie au repos de l'électron et du positron produits. L'excédant d'énergie est emporté sous forme d'énergie cinétique par les deux particules. Le

positon s'annihile avec un électron du milieu en donnant naissance à deux photons d'énergie de 511 keV, émis à 180° l'un de l'autre. La section efficace d'interaction par production de paires est proportionnelle à Z^2 mais seulement pour les photons d'énergie supérieure ou égale à 1,02 MeV. La figure 1.5 représente l'effet de production de paires.

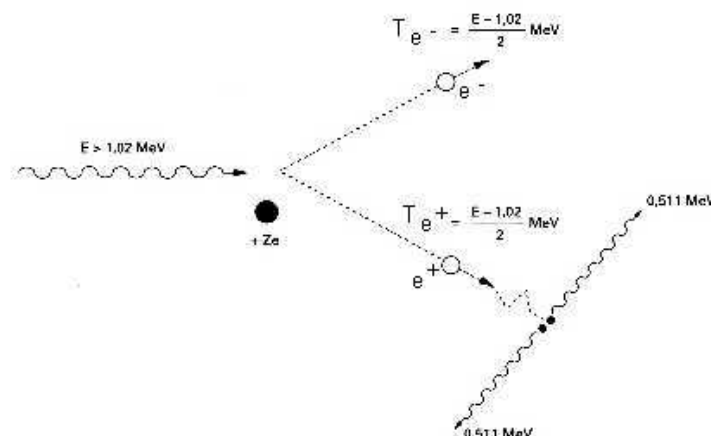


FIG. 1.5 – Effet production de paires. Interaction d'un photon par effet production de paires

Une application directe de cet effet est la T.E.P. (tomographie par émission de positon). Cette technique repose sur la détection en coïncidence des photons d'annihilation.

1.2.5 Domaine de prédominance de ces différents effets

La figure 1.6 représente les domaines de prédominance des différents effets.

La probabilité d'interaction par effet Compton est à peu près indépendante du numéro atomique de la cible. En revanche, celles par effets photoélectrique et production de paires lui sont proportionnelles. Donc le domaine d'énergie dans lequel l'effet Compton est dominant est d'autant plus important que le numéro atomique de la cible est plus faible. Ainsi, dans les applications usuelles des rayons X et des radionucléides émetteurs γ (dont les énergies se situent entre 50 keV et quelques MeV) l'effet Compton est prédominant. Pour les énergies plus basses, l'effet Compton prédomine seulement pour les matériaux légers (tissus biologique) laissant la place à l'effet photoélectrique pour les matériaux plus lourds. Notons que l'effet Rayleigh n'apparaît pas sur ce schéma du fait qu'il est largement minoritaire

1.2.6 Loi d'atténuation des rayonnements électromagnétiques dans un milieu

Lorsqu'un faisceau de rayons X ou γ pénètre dans un milieu matériel, on constate une diminution progressive de son intensité. Cette diminution du nombre de photons, l'atténuation du faisceau, est due essentiellement à l'interaction des photons avec les électrons. De ce fait on dit que les photons ionisent indirectement par création de particules chargées (majoritairement e^- , e^+) dans le milieu où ils se

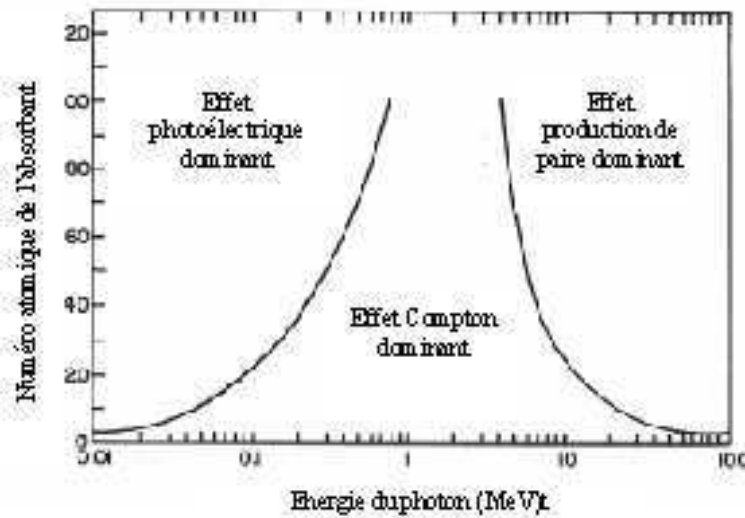


FIG. 1.6 – Domaine de prédominance des différents effets.

propagent. La nature des interactions diffère fondamentalement du processus d'ionisation mis en jeu pour les particules chargées et que nous détaillerons par la suite. En effet, alors que les particules chargées cèdent progressivement leur énergie à la matière, les rayonnements électromagnétiques disparaissent brutalement à la suite d'une interaction. Nous avons vu précédemment qu'au cours de leurs interactions avec la matière, les photons étaient, soit totalement absorbés (effet photo-électrique, création de paires e^+, e^-), soit diffusés (effet Compton) sous des angles qui peuvent être assez larges. Dans de tels processus, l'énergie totale, perdue par les photons, se retrouve sous deux formes :

- une partie E_A est absorbée par le milieu,
- une partie E_D est diffusée et sort de la matière dans une direction différente de la direction du faisceau initial.

Les phénomènes d'atténuation et d'absorption sont à l'origine des applications et des effets des rayons X en radiodiagnostic et en radiothérapie.

Loi d'atténuation

Considérons un faisceau unidirectionnel de photons monoénergétiques traversant un écran matériel. Soit

- $I(x)$ l'intensité du faisceau (nombre de photons franchissant l'unité de surface normale au faisceau par unité de temps à la position x).
- Appelons $-dI$ la variation d'intensité sur une épaisseur infiniment petite dx .

L'expérience montre que $-dI$ est proportionnel à l'intensité incidente et à l'épaisseur x : On peut donc écrire la relation de proportionnalité :

$$-dI = \mu_{(E,M)} \times I \times dx \quad (1.5)$$

Ce coefficient de proportionnalité $\mu_{(E,M)}$, que nous appelons coefficient d'atténuation linéaire, dépend de l'énergie E des photons incidents et du milieu M .

L'intégration de la relation 1.5 donne la loi d'atténuation d'un faisceau parallèle monoénergétique de rayonnement électromagnétique en fonction de l'épaisseur x :

$$I(x) = I_0 \cdot e^{-\mu_{(E,M)} \times x} \quad (1.6)$$

Puisque le phénomène décrit se déroule sur une ligne de propagation, μ est appelé coefficient linéaire d'atténuation. Puisque l'exposant de l'exponentielle n'a pas de dimension, on en déduit que la dimension de μ est l'inverse d'une longueur. $I(x)$ est l'intensité du faisceau après avoir traversé une épaisseur x de matière et I_0 l'intensité du faisceau incident ($I_0 = I_{(x=0)}$). L'intensité d'un rayonnement électromagnétique décroît exponentiellement en fonction de l'épaisseur de matière traversée. Le coefficient d'atténuation (μ) varie fortement en fonction de la matière et de l'énergie des photons. De manière générale, il croît en fonction du numéro atomique du milieu et décroît en fonction de l'énergie du rayonnement. Les valeurs des coefficients $\mu_{(E,M)}$ sont généralement tabulées.

Coefficient massique d'atténuation

Les coefficients linéaires d'atténuation sont dépendants de l'état physico-chimique de la matière : gaz, liquide, solide et sont colligés dans des tables. Pour éviter une trop grande variation des coefficients, les tables sont portées pour le rapport du coefficient linéaire d'atténuation à la masse volumique ρ du matériau : soit le coefficient massique d'atténuation : μ/ρ . Ce dernier a pour dimension une surface divisée par une masse $L^2.M^{-1}$, l'unité la plus fréquente est le $cm^2.g^{-1}$. Le sens physique de cette grandeur est celui d'une surface de section offerte aux interactions entre rayonnement et matière par unité de masse de matière traversée. Ainsi, la distance traversée est exprimée en g/cm^2 . Le tableau 1.1 présente les coefficients d'atténuation dans l'exemple d'un rayonnement de 0,835 MeV :

TAB. 1.1 – Valeur des coefficients linéiques d'atténuation et des couches de demi-atténuation pour divers matériaux.

γ de 0,835 MeV	Aluminium	Cuivre	Plomb
μ en cm^{-1}	0,182	0,578	0,937
μ/ρ en $cm^2.g^{-1}$	0.068	0.065	0.082
Couche de demi-atténuation en cm	3,808	1,199	0,740

Lors de l'effet photoélectrique . On a vu que l'énergie du photon est absorbée, la quantité d'énergie cédée au milieu est donc :

$$E = h\nu - W_i \quad (1.7)$$

ce qui correspond à une atténuation du faisceau, spécifique de l'effet photoélectrique. Dans ce cas, le coefficient d'atténuation est noté τ . Lorsque l'énergie du photon incident est inférieure à 511 keV et supérieure à l'énergie de la couche K (W_k), ce coefficient est proportionnel à :

$$\frac{Z^5}{h\nu^{7/2}} \quad (1.8)$$

et le coefficient massique d'atténuation τ/ρ est quant à lui proportionnel à :

$$Z^3/h\nu^3 \quad (1.9)$$

Lors de l'effet Compton . Le coefficient d'atténuation pourra être réparti en deux :

- l'un lié à l'absorption d'énergie (e^- Compton)
- l'autre lié à la diffusion de l'énergie ($h\nu_{Compton}$).

On a approximativement :

$$\mu_C \simeq \frac{Z}{h\nu} \quad (1.10)$$

donc l'effet Compton augmente avec Z et diminue avec E, mais rapporté à la masse volumique μ_C/ρ est sensiblement indépendant de Z donc de la nature de la matière.

Lors de l'effet création de paires . Le coefficient d'atténuation, noté π , est nul pour des énergies inférieures à 1,022 MeV. Il évolue ensuite tel que :

$$\pi \approx Z \cdot \text{Log}(h\nu) \quad (1.11)$$

Le coefficient d'atténuation global . C'est la somme des coefficients d'atténuation liés à l'effet photoélectrique, l'effet Compton et l'effet de création de paires :

$$\mu = \tau + \sigma + \pi \quad (1.12)$$

Le coefficient d'atténuation massique s'exprime quant à lui comme :

$$\mu/\rho = \tau/\rho + \sigma/\rho + \pi/\rho \quad (1.13)$$

On sait que μ varie en fonction de Z et de E. L'avantage à utiliser le terme μ/ρ est d'avoir une fonction à peu près indépendante de Z dans les zones où l'effet Compton est prépondérant. Le graphe 1.7 représente l'évolution de μ/ρ , pour le plomb et pour l'eau en fonction de l'énergie des photons.

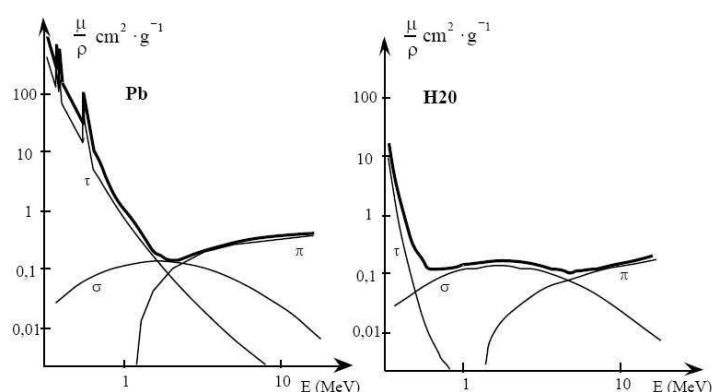


FIG. 1.7 – coefficient massique d'atténuation. Cas du Plomb et de l'eau

Cas des photons X ou γ de haute énergie

L'atténuation des photons de haute énergie dans le milieu est une donnée de base à prendre en compte lors des traitements par radiothérapie externe. En réalité, on s'intéresse plutôt à la dose déposée par les photons en fonction de leur atténuation par le milieu. Ces "profils de dose en profondeur" sont caractéristiques d'un faisceau donné. Ils permettront notamment de quantifier la qualité d'un faisceau de haute énergie (voir paragraphe 2.4.2 p. 45).

La figure 1.8 représente la distribution de dose en profondeur de deux faisceaux de photons, 6 MV et 16 MV dans l'eau. Il est intéressant de noter que si le faisceau de photons est atténué dans l'eau, on observe cependant une augmentation de la dose déposée dans les premiers centimètres. Cette zone correspond à la mise en équilibre électronique. Au delà, on retrouve bien entendu une atténuation exponentielle de la dose déposée correspondante à l'atténuation des photons.

On retiendra pour les photons de hautes énergies :

- une atténuation exponentielle de la dose en profondeur, qui engendre un surdosage des tissus en amont de la zone à irradier. Ce problème est en partie contourné par l'utilisation de plusieurs incidences de faisceaux lors des traitements de radiothérapie.
- une zone de mise en équilibre électronique dans les premiers centimètres qui favorise la protection de la peau mais qui oblige à l'utilisation de bolus ¹ pour traiter dès les premiers millimètres.
- l'atténuation est plus faible si le faisceau est plus énergétique ce qui se traduit par l'emploi de plusieurs énergies de faisceau en fonction de la profondeur de la lésion.

¹épaisseur de tissu équivalent pour assurer la mise en équilibre électronique

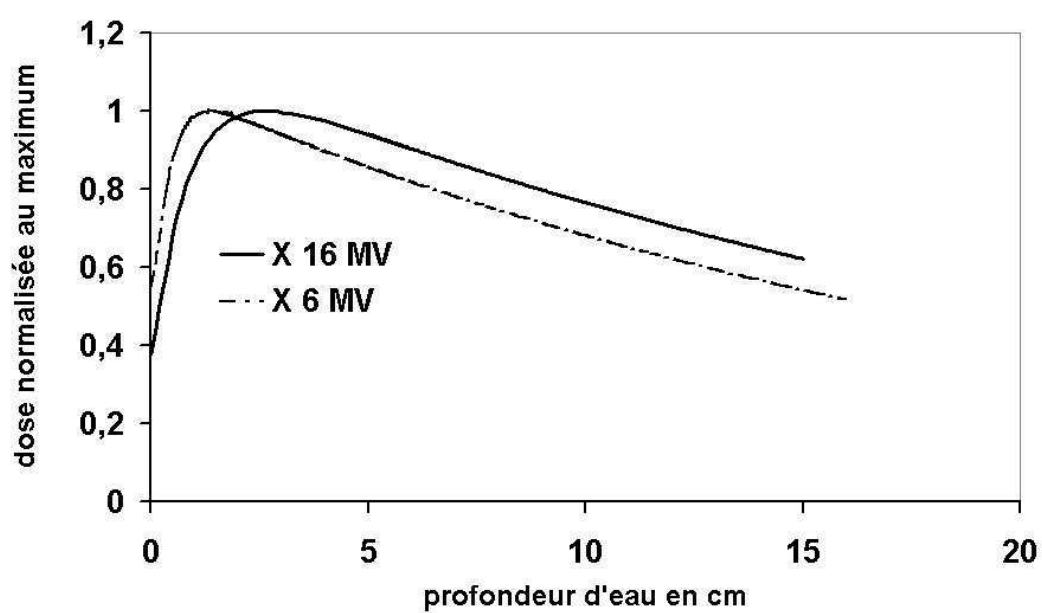


FIG. 1.8 – Dépot de dose en profondeur dans l'eau. Cas des faisceaux de 6 MV et 16 MV (Varian 2100 CD)

1.3 Interactions des particules chargées avec la matière

1.3.1 Préambule sur le caractère statistique de la perte d'énergie d'une particule chargée dans la matière.

L'interaction des particules chargées avec la matière est complètement différente de celle des rayonnements électromagnétiques. La figure 1.9 schématise un faisceau de particules de masse M_1 , de charge Z_1 et d'énergie E_1 qui traverse une épaisseur Δx de milieu. Après la traversée d'une épaisseur δx , la distribution en énergie ainsi que la distribution angulaire des particules seront modifiées.

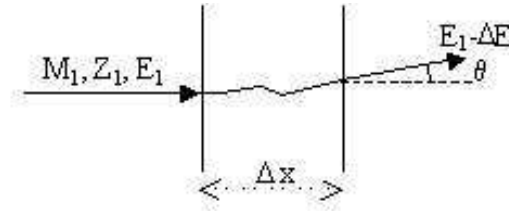


FIG. 1.9 – Interaction particules chargées-matière.

Les distributions en énergie et angulaire des particules primaires sont représentées par la figure 1.10. A la sortie du milieu, les particules auront perdu une quantité d'énergie ΔE et leurs distributions en énergie et an angle seront modifiées comme le montre la figure 1.11.

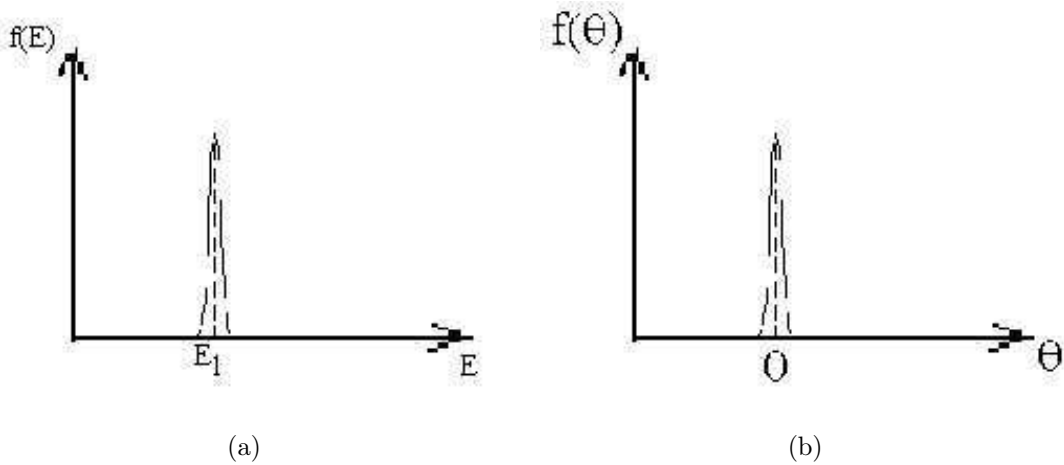


FIG. 1.10 – Distribution en énergie (a) et angulaire (b) avant l'interaction.

Après l'interaction avec l'épaisseur Δx de milieu, la distribution en énergie est décalée vers la gauche et élargie comme le montre la figure 1.11 (a). Cette distribution en énergie élargie à la sortie du milieu est aussi appelée straggling en énergie.

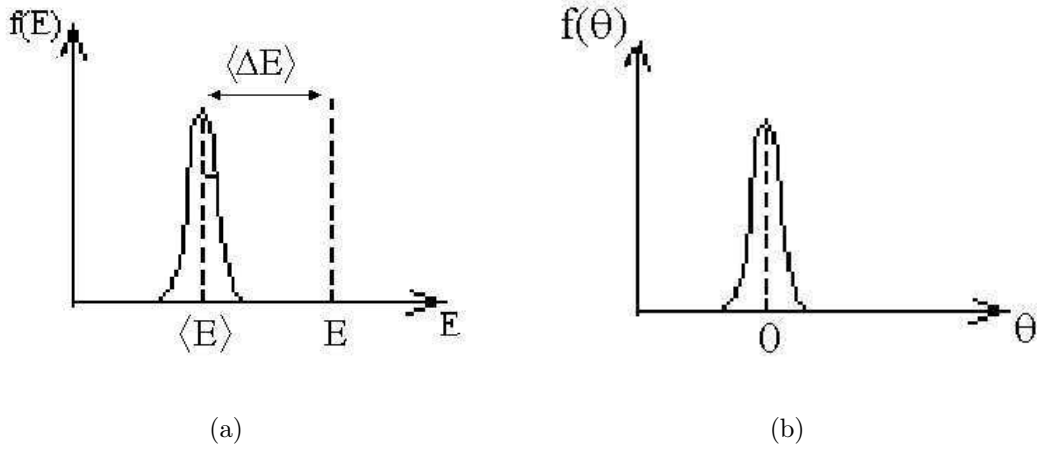


FIG. 1.11 – Distribution en énergie (a) et angulaire (b) après l'interaction.

La distribution angulaire est également élargie comme le montre la figure 1.11 (b). Cette distribution angulaire élargie à la sortie du milieu est aussi appelée straggling angulaire.

On retiendra les relations suivantes :

$$\sqrt{\Omega(\theta)^2} = \langle \theta^2 \rangle^{1/2} \quad (1.14)$$

$$\sqrt{\Omega(E)^2} = \langle (\Delta E - \langle \Delta E \rangle)^2 \rangle^{1/2} \quad (1.15)$$

– L'énergie moyenne transférée lors d'une collision sur un centre diffuseur est

$$\langle T \rangle = \frac{1}{\sigma_{tot}} \int_{T_{min}}^{T_{max}} T d\sigma(E, T) \quad (1.16)$$

où σ représente la section efficace de transfert d'énergie.

– Le nombre moyen de collisions au cours de la traversée de Δx est :

$$\langle N \rangle = n \Delta x \sigma_{tot} \quad (1.17)$$

où n est le nombre de centres diffuseurs par unité de volume.

– La perte d'énergie moyenne s'écrit, dans le cas où les collisions sont indépendantes et où $\sigma(E)$ varie peu avec E (donc pour Δx petit) :

$$\langle \Delta E \rangle = \langle N \rangle \langle T \rangle = n \Delta x \int_{T_{min}}^{T_{max}} T d\sigma(E, T) \quad (1.18)$$

– Fluctuations autour de la perte d'énergie moyenne :

$$\Omega^2 = \langle N \rangle^2 \Omega(T)^2 + \langle T \rangle^2 \Omega(N)^2 \quad (1.19)$$

Si on fait l'hypothèse de collisions indépendantes (loi de Poisson pour $N \Rightarrow \Omega(N)^2 = \langle N \rangle$) alors :

$$\Omega^2 = \langle N \rangle (\Omega(T)^2 + \langle T \rangle^2) = \langle N \rangle \langle T^2 \rangle = n \Delta x \int_{T_{min}}^{T_{max}} T^2 d\sigma(E, T) \quad (1.20)$$

Les fluctuations sur la perte d'énergie ("straggling" = Ω) augmentent comme $(\Delta x)^{1/2}$

Remarques :

- La section efficace σ_{tot} est la somme des sections efficaces de collisions élastiques et inélastiques.
- $\lim_{\Delta x \rightarrow 0} \frac{\langle \Delta E \rangle}{\Delta x} = -\frac{dE}{dx} = n \int_{T_{min}}^{T_{max}} T d\sigma(E, T)$ représente le pouvoir d'arrêt de la cible.
- On peut faire un traitement analogue sur les fluctuations angulaires (limitées aux petits angles).

Lorsqu'une particule traverse de la matière, elle lui transmet tout ou partie de son énergie cinétique.

Ce dépôt d'énergie s'effectue selon des processus qui dépendent :

- du type de particule,
- de son énergie,
- de la matière traversée.

1.3.2 Cas des électrons

Comme c'est le cas de l'ensemble des particules chargées, les électrons cèdent progressivement leur énergie à la matière. A très haute énergie (> 10 MeV), le processus dominant est le **Bremstrahlung** ou rayonnement de freinage : Les électrons en mouvement dans les champs coulombiens des atomes subissent de fortes décélérations à cause de leur faible masse. Ces décélérations leur font perdre de l'énergie sous forme radiative.

A plus faibles énergies, la perte d'énergie est due principalement aux **ionisations et excitations**.

L'électron entre en collision avec les atomes et peut soit :

- **diffuser** élastiquement (faible perte d'énergie),
- **ioniser** l'atome en lui arrachant un ou plusieurs électrons,
- **exciter** l'atome qui pour se désexciter peut s'autoioniser ou émettre un photon. Le photon créé peut ensuite arracher un électron plus loin par effet photoélectrique.

Il se produit alors une cascade de photons et d'électrons au fur et à mesure que l'énergie apportée par l'électron incident se dissipe. Compte-tenu de sa faible masse, la trajectoire de l'électron est une ligne fortement brisée et l'énergie se disperse beaucoup spatialement. La figure 1.12 représente les dépôts d'énergie par rayonnement de freinage (Bremstrahlung, en pointillés) et par ionisation (en trait discontinu) des électrons dans l'eau.

Notion de parcours

Dans le cas des particules chargées, il est d'usage de distinguer deux types de parcours dans la matière.

Le parcours R qui correspond à la distance totale parcourue par la particule.

Le parcours projeté R_p , qui correspond à la distance projetée sur l'axe d'incidence, parcourue par la particule.

Le parcours moyen d'une particule chargée, tenant compte du caractère statistique des pertes d'énergie, est donné par :

$$R = \int_{E_0}^0 \left(\frac{dE}{dx} \right)^{-1} dE \quad (1.21)$$

Le tableau 1.2 résume quelques parcours des électrons dans l'eau en fonction de leurs énergies .

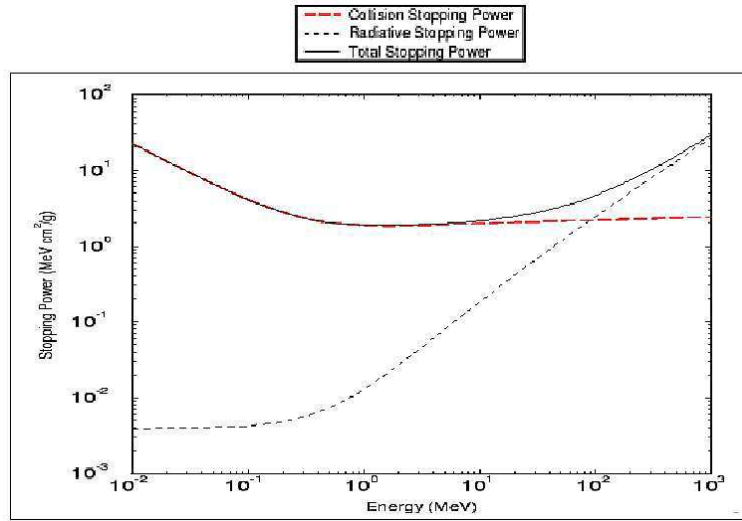


FIG. 1.12 – Dépôt d'énergie dans l'eau par les électrons. programme ESTAR

TAB. 1.2 – Valeurs des coefficients linéiques d'atténuation et du parcours projeté, R_p des électrons dans divers matériaux et pour différentes énergies.

E en MeV	Air		Eau		Plomb		Aluminium	
	$\rho=0.00129 \text{ g/cm}^3$		$\rho=1 \text{ g/cm}^3$		$\rho=11.3 \text{ g/cm}^3$		$\rho= 2.7 \text{ g/cm}^3$	
	dE/dx $MeV.cm^2/g$	R_p g/cm^2	dE/dx $MeV.cm^2/g$	R_p g/cm^2	dE/dx $MeV.cm^2/g$	R_p g/cm^2	dE/dx $MeV.cm^2/g$	R_p g/cm^2
1	1.67	0.49	1.86	0.44	1.12	0.78	1.86	0.53
6	1.97	3.25	2.01	3.05	1.84	4.24	2.01	3.33
8	2.07	4.25	2.08	4.03	2.12	5.25	2.08	4.26
10	2.16	5.19	2.14	4.97	2.41	6.13	2.15	5.21
12	2.24	6.3	2.21	6.12	2.89	7.10	2.21	6.18
18	2.47	8.45	2.40	8.28	3.54	8.71	2.40	8.13

1.3.3 Cas des particules chargées lourdes

Les principaux processus responsables de la perte d'énergie d'un ion dans la matière dépendent essentiellement de la vitesse de ce dernier. Il est courant de considérer trois domaines de vitesse du projectile.

Les basses vitesses : $V_p \leq Z_p V_0$

Les hautes vitesses : $Z_p V_0 \ll V_p \ll c$

Les vitesses relativistes : $V_p \simeq c$

Où :

V_0 est la vitesse de Bohr. $V_0 = e^2 / (2.n.h.\epsilon_0)$

c est la célérité de la lumière dans le vide

Z_p et V_p le numéro atomique et la vitesse du projectile.

D'un point de vue fondamental, trois mécanismes caractérisent l'interaction d'une particule chargée avec la matière :

1. La collision élastique ou encore l'interaction avec le noyau de l'atome cible.
2. La collision inélastique ou interaction avec les électrons de l'atome cible.
3. Les réaction nucléaires, dont celle de fragmentation.

Les collisions élastiques avec les noyaux

Ce processus de perte d'énergie est dominant pour les projectiles à basses vitesses. Il s'agit de considérer les chocs entre la particule projectile et les noyaux des atomes cibles. L'énergie interne des partenaires reste invariante pendant et après la collision. L'énergie cinétique totale est conservée au cours de la collision. Le transfert d'énergie s'effectue par échange de quantité de mouvement du projectile vers la cible. Ce transfert d'énergie est maximal pour les chocs frontaux. On utilise généralement pour décrire ces collisions le modèle de l'atome Bohr (Bohr 1948). Dans cette approche, le noyau est un centre ponctuel chargé positivement autour duquel gravitent, sur des orbitales, des électrons. Ces électrons peuvent constituer une charge d'écrantage. Si l'énergie cinétique transférée est supérieure à l'énergie nécessaire pour déplacer un atome vers un autre site (exemple du réseau cristallin), il y a création de défaut. Dans le cas contraire il y a un échauffement de la cible.

En général, si les collisions élastiques contribuent faiblement à la perte d'énergie totale d'une particule chargée rapide dans la matière, elles contribuent largement à la déflexion angulaire de celle-ci, ainsi qu'aux dommages créés dans la cible (déplacement d'atomes).

Les collisions inélastiques avec les électrons

Contrairement au cas des collisions élastiques, l'énergie cinétique totale des particules n'est plus la même avant et après la collision. Les électrons d'un atome ne peuvent pas être considérés comme des particules libres puisqu'elles évoluent dans le potentiel attractif du noyau. Au cours de la collision, une partie de l'énergie cinétique, cédée par le projectile, se redistribue sur un ou plusieurs électrons de la cible. Si l'ion incident possède des électrons, sa configuration électronique peut également être modifiée au cours de la collision. La nature des modifications des structures électroniques des deux partenaires de la collision (gain d'énergie interne, gain ou perte d'un ou plusieurs électrons...) dépend des processus fondamentaux mis en jeu lors des collisions inélastiques c'est-à-dire :

- L'excitation.
- L'ionisation

- La capture électronique.

L'excitation : L'excitation consiste en la modification de la configuration électronique de l'atome cible. Cette modification s'effectue lors du passage d'un électron d'un niveau énergétique stable vers un niveau d'énergie supérieur. Le quanta d'énergie nécessaire à cette transition est cédé, par la particule projectile au cours de la collision. La transition électronique rend l'atome cible instable et deux voies de désexcitation seront possibles, identiques à celle présentées lors de l'effet photoélectrique (voir paragraphe 1.2.2 p. 8).

- Transition radiative
- Transition Auger

L'importance relative des deux modes de désexcitation va dépendre de la couche électronique à partir de laquelle l'électron a été excité. Si l'électron a été excité à partir d'une couche interne (électron fortement lié) alors l'émission Auger est possible. Si l'électron excité est un électron de valence (très peu lié) alors la seule voie de désexcitation est radiative.

L'ionisation L'ionisation peut être considérée comme une excitation au cours de laquelle l'énergie transférée à l'électron est telle qu'il passe de son état lié au continuum.

La capture électronique La capture correspond au transfert d'un ou plusieurs électrons de la cible vers le projectile. L'électron passe d'un état initial lié à la cible à un état final lié au projectile. Suite à ce mécanisme de capture électronique, l'atome de la cible se trouve ionisé puisqu'il a perdu un ou plusieurs électrons. Le retour vers le niveau fondamental de l'atome cible nécessite une succession de plusieurs processus de recombinaison et de désexcitation. Les trois phénomènes que nous venons de présenter interviennent de manière concourante lors des collisions inélastiques. L'importance relative de chacun d'eux va dépendre :

- De la nature de la cible et du projectile
- De la vitesse du projectile
- De la couche électronique considérée.

La figure 1.13 représente les sections efficaces de chacun des phénomènes en fonction de l'énergie du projectile lors d'une collision proton sur hydrogène (Vernhet, Rozet, Woohrer, et al. 1996).

Lors de la traversée d'une cible fine épaisseur dx (ou d'une couche fine de cette cible), les particules projectiles vont céder une partie de leur énergie par collisions élastiques et inélastiques. Afin de rendre compte du ralentissement (des pertes d'énergie) du projectile dans la cible nous utiliserons une grandeur statistique : Le pouvoir d'arrêt S de la cible qui s'exprime selon la relation :

$$S = \lim_{\Delta x \rightarrow 0} \frac{\langle \Delta E \rangle}{\Delta x} = - \frac{dE}{dx} \quad (1.22)$$

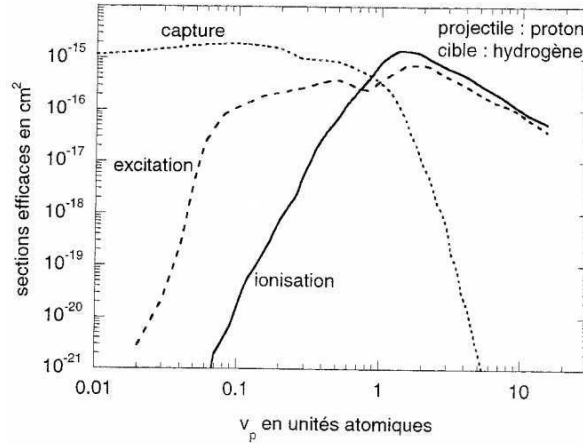


FIG. 1.13 – Sections efficaces des trois processus d'interaction en fonction de l'énergie du projectile pour une collision proton sur hydrogène. (Vernhet, Rozet, Woohrer, et al. 1996)

Cette grandeur a fait l'objet de nombreux travaux notamment ceux de BETHE (Bethe 1930) et BLOCH (Bloch 1933). Pour distinguer les deux processus fondamentaux mis en jeu selon la vitesse du projectile, on distinguera le pouvoir d'arrêt d'origine nucléaire (du aux collisions élastiques) et le pouvoir d'arrêt d'origine électronique (du aux collisions inélastiques sur les atomes de la cible).

Le pouvoir d'arrêt nucléaire d'un ion dans la matière : Le pouvoir d'arrêt nucléaire d'un ion dans la matière $S_{nucl} = (dE/dx)_{elast}$ représente le transfert d'énergie lors des processus élastiques avec les noyaux des atomes. Cette dissipation de l'énergie cinétique du projectile lors de chocs élastiques peut être décrite par les lois de la mécanique classique. La difficulté réside dans le choix du potentiel d'interaction entre les deux particules.

Biersack (Biersack et Haggmark 1980) a donné une expression analytique du pouvoir d'arrêt nucléaire sur la base d'un potentiel réaliste de Thomas Fermi :

$$\left(-\frac{dE}{dx} \right)_{lastique} = 4\pi \times N \times a \frac{M_p}{M_p + M_c} Z_p Z_c e^2 \frac{\ln \varepsilon}{2\varepsilon (1 - \varepsilon^{-1.49})} \quad (1.23)$$

Avec :

N est le nombre d'atomes cible par unité de volume.

M_p, M_c, Z_p et Z_c sont respectivement les masse et charge du projectile et de la cible

a est le rayon d'écrantage en \AA du potentiel de Thomas Fermi.

$$a = \frac{0.4685}{(Z_c^{\frac{1}{2}} + Z_p^{\frac{1}{2}})^{\frac{2}{3}}} \quad (1.24)$$

et

$$\varepsilon = \frac{M_2}{M_1 + M_2} \frac{E_1 a}{Z_1 Z_2 e^2} \quad (1.25)$$

Le pouvoir d'arrêt électronique d'un ion dans la matière $S_{elect} = (\frac{dE}{dx})_{inelast}$ Pour des projectiles rapides, le ralentissement d'un ion dans la matière peut être traité comme une succession de collisions inélastiques avec les électrons. L'interaction est représentée par un potentiel coulombien central et conduit à la relation suivante :

$$-\frac{dE}{dx} = 2\pi N \times Z_c \left(\frac{Z_p \times e^2}{4\pi\epsilon_0} \right)^2 \frac{1}{m_e \times V_p^2} \times \ln\left(\frac{2 \times m_e \times V_p^2}{I}\right) \quad (1.26)$$

Où

m_e est la masse de l'électron et I est l'énergie moyenne d'ionisation.

Cette formule simple permet d'expliquer la dépendance entre le pouvoir d'arrêt et la vitesse du projectile dans le régime des hautes vitesses. Notons que BETHE et BLOCH ont apporté des termes correctifs pour étendre le domaine de validité de cette expression à une plus large gamme d'énergie.

Lorsque la vitesse du projectile est comparable à celle des électrons de la cible, il n'existe pas de formulation simple du pouvoir d'arrêt. Les électrons de la cible vont pouvoir être capturés par l'atome projectile. Pour rendre compte des phénomènes d'échanges de charges, on introduit la notion de charge effective du projectile, noté Z_p^* :

$$Z_p^* = Z_p \left(1 - \exp\left(-Z_p^{-\frac{2}{3}} \times \frac{V_p}{V_0}\right) \right) \quad (1.27)$$

Nous retiendrons de ces expressions que le pouvoir d'arrêt électronique s'exprime en $1/V_p^2$. Cela signifie notamment que plus la particule ralentie plus le pouvoir d'arrêt augmente ce qui se traduit également par un très fort dépôt de dose en fin de parcours du projectile que l'on appelle "pic de Bragg". La figure 1.15 montre le pic de Bragg calculé pour un ion carbone d'énergie 400 MeV/u dans une cible d'eau.

1.3.4 Ralentissement d'un faisceau de particules lourdes chargées dans la matière

Dans le processus de perte d'énergie dans la matière, les interactions avec les électrons atomiques sont prédominantes. Elles s'accompagnent chaque fois d'un transfert d'énergie. Nous avons également décrit les interactions nucléaires, de probabilité plus faible qui conduisent soit à des réactions nucléaires, comme la fragmentation des noyaux cibles et projectiles par exemple soit à de la diffusion. Le cas particulier de la fragmentation nucléaire sera brièvement cité à la fin de ce chapitre. Lorsque la particule projectile passe dans le champ du noyau elle subit une accélération et une diffusion qui provoque l'émission d'un rayonnement électromagnétique appelé rayonnement de freinage ou bremsstrahlung (que nous avons également rencontré avec les électrons). Tout transfert d'énergie de la particule chargée au milieu se traduit par un ralentissement de celle-ci. Ce pouvoir de ralentissement linéique total regroupe l'ensemble des événements survenant le long du parcours de la particule chargée. Nous verrons dans le paragraphe suivant que ce pouvoir de ralentissement s'exprime comme la perte d'énergie de la particule par unité de

longueur de parcours. Cette perte d'énergie, que nous noterons " $\frac{dE}{dx}$ " s'exprime également par :

$$(dE/dx) = (dE/dx)_{excitation} + (dE/dx)_{ionisation} + (dE/dx)_{freinage} \quad (1.28)$$

Une particule chargée subissant tout au long de sa trajectoire des pertes successives d'énergie finit par s'arrêter. Le trajet qu'elle effectue est donc limité quelque soit le milieu considéré ; c'est la notion de parcours qui représente cette distance. De nombreux codes de calcul permettent de simuler le ralentissement des particules lourdes chargées dans la matière. Nous avons utilisé le code "SRIM" développé par J.F. Ziegler (Ziegler 1978), (Ziegler 1980) et (Ziegler, Biersack, et Littmark 1984). La figure 1.14 représente les pertes d'énergie calculées pour un ion carbone de 400 MeV/u sur une cible d'eau. L'énergie est exprimée en MeV et non en MeV/u. Les dE/dX sont exprimés en $keV/\mu m$. Comme nous l'évoquions précédemment, les pertes d'énergie d'origines électroniques sont largement prépondérantes. Le parcours des ions carbone peut également être calculé. Dans cet exemple il est de 27.8 cm dans l'eau (cf figure 1.15).

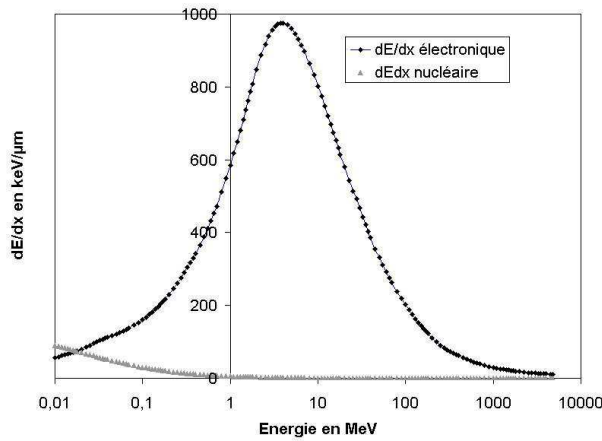


FIG. 1.14 – Pertes d'énergie, d'origines électronique et nucléaire, calculées pour des ions carbone dans l'eau. Programme SRIM

Le transfert d'énergie linéique d'une particule chargée : le $T.E.L.$

Si on considère maintenant, l'ensemble des phénomènes, que nous venons de décrire, responsable de la perte d'énergie d'un ion dans la matière alors, nous définissons la trace laissée par une particule chargée lorsqu'elle traverse la matière. Il s'agit en effet de toutes les ionisations, qu'elles soient primaires ou d'ordres supérieurs, de toutes les excitations électroniques qui vont survenir le long de la trajectoire d'une particule chargée.

Le transfert d'énergie linéique ($T.E.L.$) est défini dans le rapport ICRU 49 (ICRU49D 1993) comme le quotient dE/dl où dE est l'énergie moyenne localement impartie au milieu par une particule d'énergie E traversant une distance dl de milieu. Il est généralement exprimé en $keV/\mu m$.

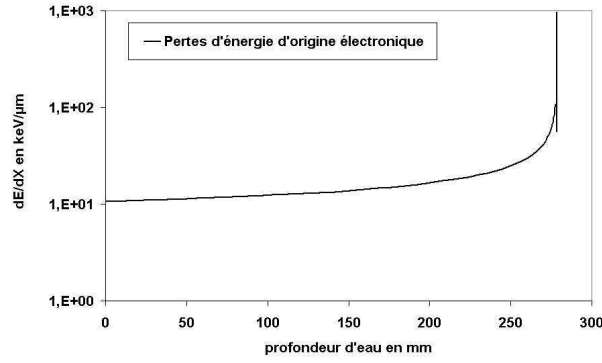


FIG. 1.15 – Pertes d'énergie électronique et parcours calculées pour un ion carbone dans l'eau. Programme SRIM

Le *T.E.L.* donne en quelque sorte une image de la répartition des ionisations le long de la trajectoire de la particule. En première approximation, le *T.E.L.* est assimilé au pouvoir de ralentissement total :

$$S_{tot} = S_{elect} + S_{nucl} + S_{rad} \quad (1.29)$$

Il est alors symbolisé par $T.E.L._{\infty}$.

Si on définit arbitrairement Δ comme l'énergie minimale des électrons d'ionisation dont les trajectoires se “ différencient ” de la trajectoire de la particule incidente alors, tous les électrons dont $E \geq \Delta$ sont nommés électrons δ . Ils se comportent comme des particules secondaires distinctes. C'est pour faire la distinction entre les électrons δ et les autres électrons d'ionisations que l'on définit le TEL_{Δ} qui représente la somme des transferts d'énergie inférieure à l'énergie de coupure Δ .

On trouve généralement $\Delta = 100$ eV.

La distribution de dose radiale autour de la trajectoire d'une particule chargée, rapide.

Si le *T.E.L.* caractérise l'énergie moyenne localement impartie au milieu par une particule d'énergie E traversant une distance dl , il n'est cependant pas un paramètre suffisant pour définir entièrement l'interaction ion matière. En effet lorsque les traces autour des trajectoires des ions ont été détectées dans les émulsions exposées aux rayonnements cosmiques en 1948, la largeur de cette trace était supposée être proportionnelle aux ionisations engendrée par la particule projectile. Cependant, alors que le transfert d'énergie linéique d'une particule augmente en fin de parcours, on observe une diminution du diamètre de la trace formant un cône terminal au sein de l'émulsion. La diminution de la largeur de la trace en fin de parcours était attribuée au phénomène de capture électronique survenant à faible vitesse. La figure 1.16 représente la diminution de la trace laissée par la particule en fin de parcours alors que son transfert d'énergie linéique augmente.

Lonchamp (Lonchamp 1953) en 1953 proposa une théorie afin de clarifier la distinction entre les ionisations autour de la trajectoire et la largeur de la trace notamment en fin de parcours lorsque les ionisations sont de plus en plus nombreuses et où l'on constate que la largeur de la trace diminue. Selon

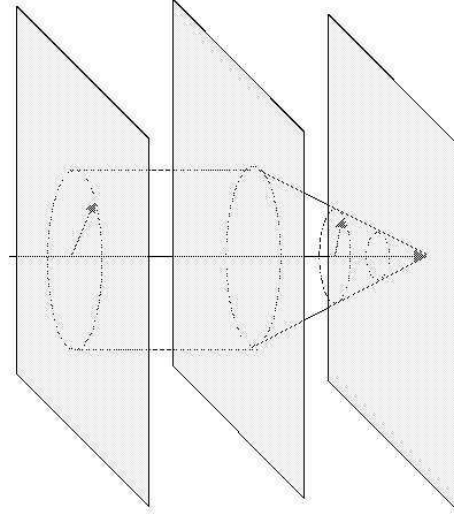


FIG. 1.16 – Diminution de la largeur de la trace en fin de parcours. Cas des émulsions nucléaires

Lonchamp, la dimension de la trace est calculée comme le diamètre d'un cylindre centré sur la trajectoire de l'ion, au travers duquel passent 400 électrons-delta tous les $100 \mu m$ de parcours du projectile. Une amélioration de cette théorie a été apportée par Bizzeti et Delta Corte (Bizzeti et Delta Corte 1959). Ils ont en effet remplacé le critère de formation de trace selon un flux d'électrons delta par un critère de formation de trace selon un flux d'énergie. Ainsi, en fin de parcours du projectile, la diminution de la largeur de la trace s'explique par le fait que les r-delta sont émis avec une plus faible énergie et ont un parcours plus faible que la dimension des grains de l'émulsion nucléaire. Plusieurs auteurs se sont penchés sur la distribution radiale de l'énergie autour de la trajectoire d'une particule chargée. Butts et al. ont ainsi proposé un modèle pour évaluer la dose générée par les électrons delta en fonction de la distance radiale r à la trajectoire d'un ion. Ils ont utilisé la formule donnant la distribution des électrons delta générés par le passage d'une particule de vitesse relative β et de charge effective Z^* :

pour $w \leq w_{max}$:

$$dn = \frac{C Z^{*2}}{\beta^2} \frac{dw}{w^2} \quad (1.30)$$

pour $w > w_{max}$:

$$dn = 0 \quad (1.31)$$

avec :

$$C = \frac{2\pi N e^4}{m c^2} = 0.85 \frac{keV}{100 \mu m} \quad (1.32)$$

ou m et e sont respectivement la masse et la charge de l'électron.

N est la densité électronique du matériau cible. Si on considère de l'eau, $N = 3.35 * 10^{23}$ électrons par cm^3 .

Ces relations donnent le nombre d'électrons delta, dont l'énergie est comprise entre w et $w + dw$, générés par unités de longueur de parcours de la particule.

Pour tenir compte des phénomènes d'échange de charge on adjoint à l'équation 1.30 l'expression établie par Barkas (Barkas, Dyer, et Heckman 1963) donnant la charge effective Z^* d'un ion de charge Z et de vitesse βc . Soit :

$$Z^* e = Ze \left[1 - \exp(-125\beta Z^{-2/3}) \right] \quad (1.33)$$

L'angle ϑ d'éjection des électrons delta nous est donné par la relation :

$$\cos^2 \vartheta = w/w_{\max} \quad (1.34)$$

En rapport avec les équations 1.30 et 1.34 on remarque que les électrons dont l'énergie est très inférieure à w_{\max} sont éjectés à 90° de la trajectoire de l'ion. Ces électrons sont les plus nombreux (équation 1.30) et pour simplifier on va considérer que tous les électrons sont éjectés à 90° .

Une expression établie par Butts suivant les mesures de Kanter et Sternglass (Kanter et Sternglass 1962) donne le parcours r des électrons en fonction de leurs énergie w :

$$r = k w^\alpha \quad (1.35)$$

Pour l'eau, $k = 10 \mu g/cm^2 keV$ et $\alpha = 1$

L'équation 1.35 montre qu'un électron éjecté normalement à la trajectoire de l'ion et traversant une couronne de diamètre r et d'épaisseur dr dépose une énergie $dw = \frac{1}{k} dr$

En considérant qu'un électron d'énergie $w(r)$ dispose juste de l'énergie suffisante pour atteindre la couronne de rayon r alors le nombre d'électrons, dont l'énergie est comprise entre w et w_{\max} , traversant la couronne est obtenu en intégrant l'équation 1.30 :

$$n[w(r), w_{\max}] = \frac{C Z^{*2}}{\beta^2} \int_{w(r)}^{w_{\max}} \frac{dw}{w^2} \quad (1.36)$$

$$n[w(r), w_{\max}] = \frac{C Z^{*2}}{\beta^2} \left[\frac{1}{w(r)} - \frac{1}{w_{\max}} \right] \quad (1.37)$$

Pour établir l'expression de l'énergie déposée par unité de volume (dans une couronne cylindrique) il faut multiplier l'énergie déposée par électrons par le nombre d'électrons soit :

$$D_\delta(r) = \frac{1}{k} \frac{dr}{2\pi r dr} \frac{C Z^{*2}}{\beta^2} \left[\frac{1}{w(r)} - \frac{1}{w_{\max}} \right] \quad (1.38)$$

$$D_\delta(r) = \frac{1}{2\pi r} \frac{C Z^{*2}}{\beta^2} \left[\frac{1}{k w(r)} - \frac{1}{k w_{\max}} \right] \quad (1.39)$$

$$D_\delta(r) = \frac{1}{2\pi r} \frac{2\pi N e^4 Z^{*2}}{m c^2 \beta^2} \left[\frac{1}{r} - \frac{1}{R} \right] \quad (1.40)$$

soit

$$D_\delta(r) = \frac{Ne^4 Z^{*2}}{mc^2 \beta^2 r} \left[\frac{1}{r} - \frac{1}{R} \right] \quad (1.41)$$

ou $R = kw_{max}$

On retiendra de ces relations, l'évolution de $D_\delta(r)$ en fonction de $1/r^2$.

Distribution proposée par Waligorski et Katz Waligorski et al (Waligorski, Hamm, et Katz 1986a) ont proposé une formulation analytique de la distribution radiale de dose pour des ions traversant de l'eau. Leur expression analytique s'exprime de la façon suivante :

$$D(r) = D_1(r) \times (1 + K(r)) \quad (1.42)$$

où $D_1(r)$ est la distribution de dose proposée par Katz et al. (Robert 1985) et $(1 + K(r))$ est un facteur pour tenir compte de la sous évaluation, par ce modèle, de la dose au voisinage de la trajectoire de l'ion.

$$D_1(r) = \frac{Ne^4 Z^{*2}}{\alpha mc^2 \beta^2} \left[\frac{\left(1 - \frac{r+R_{min}}{R_{max}+R_{min}}\right)^{\frac{1}{\alpha}}}{r(r+R_{min})} \right] \quad (1.43)$$

et $D(r)$ devient donc :

$$D(r) = \frac{Ne^4 Z^{*2}}{\alpha m c^2 \beta^2} \left[\frac{\left(1 - \frac{r+R_{min}}{R_{max}+R_{min}}\right)^{1/\alpha}}{r (r + R_{min})} \right] \times (1 + K(r)) \quad (1.44)$$

– si $r > B = 0.1 \text{ nm}$

$$K(r) = A \frac{r-B}{C} \exp - \left(\frac{r-B}{C} \right) \quad (1.45)$$

avec :

- $B = 0.1 \text{ nm}$
- $C = 1.5 \text{ nm} + 5 \text{ nm} \times \beta$
- $A = 8 \times \beta^{\frac{1}{3}}$ pour $\beta < 0.03$
- $A = 19 \times \beta^{\frac{1}{3}}$ pour $\beta > 0.03$
- si $r < B = 0.1 \text{ nm}$

$$K(r) = 0 \quad (1.46)$$

Les divers paramètres de $D_1(r)$ valent :

- $\alpha = 1,079$ si $\beta < 0,03$ vitesse relative du projectile.
- $\alpha = 1,667$ si $\beta > 0,03$.
- $R_{max} = k.W^\alpha$ où $k = 6.10^{-6} \text{ g.cm}^{-2} \text{ keV}^{-\alpha}$.

- $W = 2.m_e c^2.\beta^2/(1-\beta^2)$ énergie en keV des électrons les plus rapides éjectés par l'ion.

Cette formule semi-empirique donne la distance moyenne parcourue par un électron d'énergie cinétique W .

- $R_{min} = k.w^\alpha$ avec $w = 10^{-2}$ keV et $\alpha = 1,079$ ce qui donne $R_{min} = 0,417$ nm.
- K est déterminé en normalisant l'intégrale radiale totale de la fonction à la valeur $T.E.L.$ du pouvoir d'arrêt.

A des distances très inférieures à R_{min} , la forme de cette distribution radiale s'écarte de la loi en $(1/r^2)$. A cette échelle de distances, la décroissance est en $1/r$ avec une fonction $K(r)$ qui renforce encore plus le dépôt de dose à courte distance. Le terme $\left(1 - \frac{r+R_{min}}{R_{max}+R_{min}}\right)^{\frac{1}{\alpha}}$ adoucit également le retour à zéro près de R_{max} . La figure 1.17 montre l'allure de cette distribution de dose, proposée par Waligorski et Katz, dans le cas d'un proton de 20 MeV dans l'eau liquide.

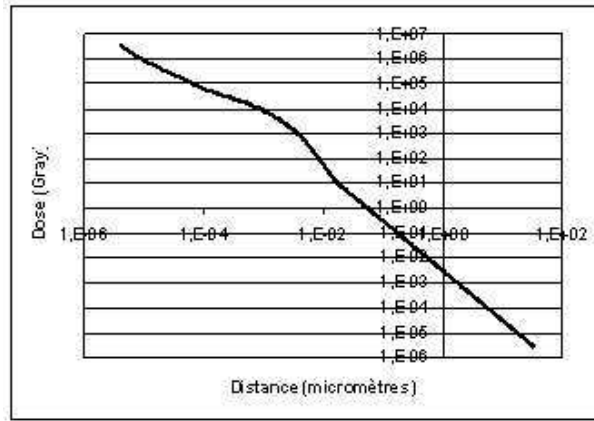


FIG. 1.17 – Distribution radiale de dose de Waligorski. Échelle log-log, Proton de 20 MeV dans l'eau liquide

Distribution proposée par Chatterjee et Magee. Une des distributions radiales de dose la plus fréquemment utilisée est celle du cœur et de la pénombre qui a été développée par Chatterjee et Magee en 1980 (Chatterjee et Magee 1980).

A partir du modèle de collision frontale et oblique, Chatterjee et Magee ont supposé que les collisions obliques sont celles produisant, avec une forte probabilité, une excitation de la cible alors que les collisions frontales sont, dans la majorité des cas, responsables de la libération d'électrons delta.

Les processus d'excitations forment le cœur de la trace de la particule tandis que les électrons delta transportent l'énergie en dehors du cœur, formant ainsi la pénombre.

Cette théorie suppose une équipartition des dépôts d'énergie entre le cœur et la pénombre.

Distribution de dose proposée par Cucinota et al. Cucinota et al. (Cucinota, Nikjoo, et Goodhead 1999), (Cucinotta, Katz, et Wilson 1998) ont plus récemment proposé une distribution radiale de dose autour de la trajectoire d'une particule lourde chargée. Le $T.E.L.$ peut être obtenu par intégration de la

distributions radiale de dose jusqu'au parcours maximal des électrons delta. En d'autres termes on somme l'ensemble des contributions (collisions élastiques et collisions inélastiques) de 0 à r_{max} . r_{max} étant le parcours maximal des électrons delta.

$$T.E.L = 2\pi \int_0^{r_{max}} r dr [D_\delta(r) + D_{exc}(r)] + S_{nucleaire} \quad (1.47)$$

Le pouvoir d'arrêt nucléaire devient prépondérant pour des vitesses inférieures à $0.1 MeV/u$ et il sera négligé par la suite.

La dose, d'origine électronique, appelée D_{delta} a été définie par Kobetich et Katz (Kobetich et Katz 1968a) qui ont établi l'expression suivante :

$$D_\delta(r) = \frac{1}{2\pi r} \sum_i \int d\Omega \int dw \frac{\partial}{\partial r} [E(r, w) \eta(r, w)] \frac{dn_i}{dw d\Omega} \quad (1.48)$$

avec

w l'énergie initiale d'un électron i

E l'énergie résiduelle de l'électron i après traversée d'une distance r .

$\eta(r, w)$ est la probabilité qu'un électron d'énergie initiale w traverse une distance r .

Ω est l'angle solide d'éjection des électrons primaires i d'énergie w produit par l'atome cible n_i

Cucinota et al (Cucinota, Katz, Wilson, et Dubey 1995) ont montré que la loi en $1/r^2$ était parfaitement valide pour les valeurs intermédiaires de r . Aux faibles valeurs de r (très proche de la trajectoire) et aux fortes valeurs de r (proche de r_{max}) la distribution angulaire des électrons modifie la contribution en $1/r^2$.

La distribution en $1/r^2$ a également été montrée par simulation Monté Carlo.

Brandt et Ritchie (Brandt et Ritchie 1974) ont établi une formulation de la distribution radiale de la dose due aux excitations.

$$D_{exc}(r) = C_{exc}(A, Z, \beta) \frac{\exp(-r/2d)}{r^2} \quad (1.49)$$

Avec $d = \frac{\beta}{2} \frac{hc}{2\pi w_r}$ ou

β est la vitesse relative de l'ion.

h est la constante de Planck.

$w_r = 13.6$ eV pour l'eau

Le paramètre $C_{exc}(A, Z, \beta)$ peut être ajusté pour que dans l'équation 1.47 on retrouve le $T.E.L.$ d'une particule de masse A , de charge Z et de vitesse β .

Le terme $\exp(-r/2d)$ explique que cette contribution soit limitée en portée (portée maximale de l'ordre de 10 nm)

comparaison des distributions de dose radiale Les figures 1.18, 1.19 et 1.20 représentent les distributions de dose radiale D_r du modèle de Kraft (en gras) et du modèle de Waligorski (en grisé) pour des ions carbone de 1 MeV/u, 10 MeV/u et 400 MeV/u. Dans le domaine d'énergie considéré, nous constatons que la tendance commune entre le modèle de Scholz et Kraft et celui de Waligorski est

l'atténuation de la dose radiale en $1/r^2$. Les similitudes des deux modèles sont particulièrement frappantes pour les distances intermédiaires. Pour les faibles distances au point d'impact, concrètement pour $r \leq 20$ nm, l'atténuation en $1/r$ du modèle de Waligorski se distingue clairement. Il n'y a plus de discontinuité marquée à 10 nm. La portée maximale du dépôt de dose radiale est également modifiée. Le tableau 1.3 montre que le parcours maximal des électrons est environ 4 fois plus grand avec le modèle de Waligorsky qu'avec le modèle de Kraft.

TAB. 1.3 – Valeurs des rayons maximal d'action, R_{max} , relatifs à la portée maximale des électrons mis en mouvement par des ions carbone de différentes énergies et pour deux modèles : Kraft et Waligorsky.

	1 MeV/u	10 MeV/u	400 MeV/u
$R_{max,Waligorski}$	220 nm	1.03E04 nm	6.6E06 nm
$R_{max,Kraft}$	50 nm	2.51E03 nm	1.3E06 nm

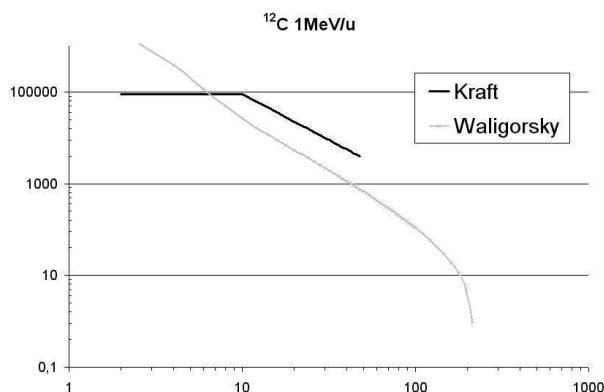


FIG. 1.18 – Distribution radiale de dose proposée par Kraft et Waligorski. Carbone de 1 MeV/u dans l'eau liquide

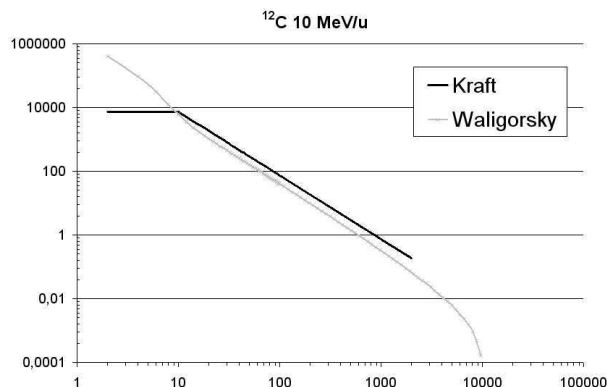


FIG. 1.19 – Distribution radiale de dose proposée par Kraft et Waligorski. Carbone de 10 MeV/u dans l'eau liquide

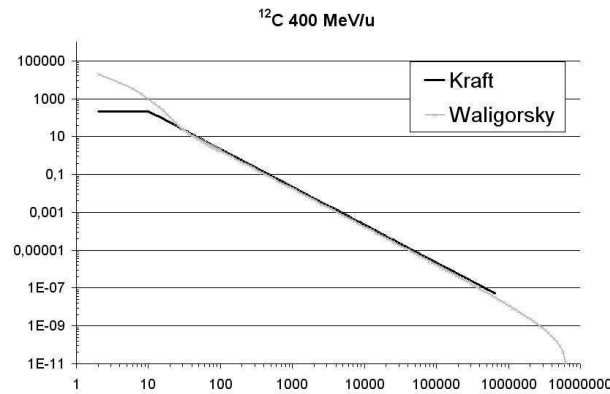


FIG. 1.20 – Distribution radiale de dose proposée par Kraft et Waligorski. Carbone de 400 MeV/u dans l'eau liquide

1.4 Cas des neutrons

En raison de leur charge nulle, les neutrons ont une interaction négligeable avec les électrons de la matière traversée. Leur énergie cinétique est peu à peu absorbée par les noyaux de la cible par :

- diffusion élastique pour les neutrons rapides,
- diffusion inélastique pour les neutrons lents.

Le cas des neutrons ne sera pas traité dans le détail ici. Nous retiendrons seulement que les dépôts de dose en profondeur dans l'eau d'un faisceau de neutrons est sensiblement identique au dépôt de dose en profondeur d'un faisceau de photons (cf figure 1.21)

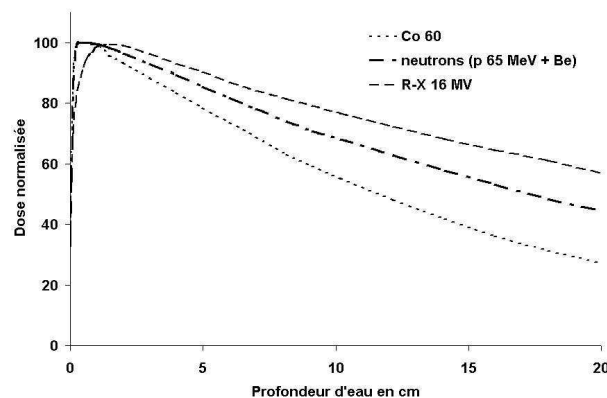


FIG. 1.21 – Distribution de dose en profondeur dans l'eau. Comparaison entre un faisceau de neutrons, un faisceau de photons γ du Co^{60} et un faisceau de photons de R-X 16 MV

1.5 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons montré les différences fondamentales concernant les interactions sur la matière entre les rayonnements électromagnétiques et les faisceaux de particules chargées. Ces différences expliquent notamment la décroissance exponentielle de la dose déposée par un faisceau de photons et au contraire la présence d'un très fort dépôt d'énergie, en fin de parcours, observé avec les particules lourdes chargées. Ce dépôt de dose très précis dans l'espace est mis à profit en cancérologie avec l'utilisation des faisceaux de protons pour le traitement des tumeurs de l'oeil par exemple.

Nous nous sommes attachés à démontrer également que le seul transfert d'énergie linéique ne suffit pas à rendre compte correctement du dépôt d'énergie des particules chargées. Il faut en effet tenir compte de la façon dont cette énergie se répartit transversalement à l'axe de propagation : il s'agit de la distribution radiale de dose. Nous avons montré enfin que ce dépôt radial d'énergie autour de la trajectoire d'une particule chargée est assez bien modélisé par une loi en $1/r^2$ où r est la distance radiale par rapport à la trajectoire.

1.6 Cas des ions : La fragmentation nucléaire

L'intérêt balistique des ions légers, que nous venons de décrire par la présence de pic de Bragg, associé aux propriétés biologiques que nous décrirons par la suite font que ces ions sont bien adaptés au traitement des lésions cancéreuses. Ces excellentes propriétés sont détériorées par les réactions nucléaires de fragmentation qui surviennent au cours de la pénétration du faisceau dans le milieu. La disparition progressive des particules primaires va altérer la qualité du faisceau d'irradiation. De plus, la production de fragments plus légers va engendrer des dépôts de dose au-delà du pic de Bragg. Par contre, certains de ces fragments qui possèdent un excédent de protons vont se désintégrer en émettant des positons. Ces positons s'annihilent avec les électrons du milieu en créant 2 photons γ émis à 180° l'un de l'autre. Ces fragments émetteurs de positons, peuvent alors permettre un contrôle in-situ de la dose déposée à l'aide d'une gamma-caméra en coïncidence, appelée caméra T.E.P (Tomographie par Emission de Positons). Nous ne détaillons pas ici les réactions de fragmentation et les modélisations disponibles.

Chapitre 2

Dosimétrie : métrologie de la dose absorbée en photonthérapie et en hadronthérapie

Avant de s'intéresser aux effets des rayonnements, électromagnétiques ou particuliers, sur le milieu biologique, il nous faut, au préalable, décrire comment la quantité de rayonnement absorbée par le milieu (ou par un organisme vivant) est quantifiée, de manière relative ou absolue. Nous allons voir dans ce chapitre les différentes méthodes de dosimétrie que nous avons mises en oeuvre lors de nos expérimentations.

2.1 Généralités et grandeurs utilisées en dosimétrie

La détermination de la dose absorbée lors des irradiations d'échantillons biologiques est une opération essentielle à laquelle il faut apporter un soin tout particulier pour obtenir le niveau de précision requis pour ce type d'expérience. D'un point de vue strictement métrologique, il est important de maîtriser l'ensemble des paramètres de l'expérience pour quantifier les erreurs afin de statuer sur la validité des résultats. Le contrôle de la dose délivrée aux échantillons et de son uniformité peut être fait **en temps réel** ou **différé**. Différentes méthodes, relatives ou absolues, peuvent être utilisées et seront présentées dans les paragraphes suivants. La dose de rayonnement représente l'énergie absorbée dE par une certaine masse dm de milieu. La dose D s'exprime donc comme le rapport :

$$D = \frac{dE}{dm} \quad (2.1)$$

L'unité est le joule par kg ou Gy. Comme nous le verrons par la suite, une des difficultés de la dosimétrie absolue réside dans la connaissance précise de la masse dm . Nous présentons dans ce chapitre la détermination de la dose absolue par chambre d'ionisation, à l'aide du protocole IAEA 398 (Andreo,

Burns, Hohlfeld, et al. 2000). Nous nous attarderons plus particulièrement au cas des ions légers. Nous présenterons notamment une technique de dosimétrie relative et différée : la dosimétrie par film.

2.1.1 Contrôle en temps réel

Le contrôle en temps réel est effectué pendant l'irradiation à l'aide des dispositifs " en ligne " de dosimétrie.

1. Pour les accélérateurs d'électrons médicaux qui ont servi à nos expériences en R-X, le monitoring de la dose est assuré par deux chambres d'ionisations plates qui sont placées en transmission dans le faisceau. Ces chambres contrôlent en temps réel la dose déposée, le débit de dose et l'homogénéité du faisceau. Dans toute installation de radiothérapie, ces chambres en transmission sont calibrées régulièrement afin de s'assurer de leur bon fonctionnement. Ce contrôle consiste en une calibration des deux chambres d'ionisation en ligne par rapport à une chambre d'ionisation de référence. Le protocole que nous avons utilisé pour déterminer la dose absolue à l'aide de notre chaîne de mesures de référence est présenté ci-après.
2. Au niveau du GANIL, les dispositifs en ligne sont différents d'une salle à l'autre et il nous est apparu important de contrôler ces dispositifs comme nous le faisons pour les accélérateurs médicaux. Le protocole que nous avons retenu pour la dosimétrie des ions lourds est également présenté.

2.1.2 Contrôle à posteriori

Au niveau de chaque échantillon, le but du contrôle à posteriori est de vérifier que la dose effectivement délivrée est conforme à la dose " prescrite " (demandée).

Pour ce contrôle dosimétrique, notre choix s'est porté sur les films radiographiques pour des raisons de simplicité et de rapidité d'utilisation, pour leur bonne résolution spatiale et la possibilité d'une acquisition de l'information sur un plan.

2.2 Mesure de la dose à l'aide de détecteur plastique CR39

Le CR 39 se classe parmi les détecteurs solides de traces. Il s'agit d'un plastique couramment utilisé en physique nucléaire pour détecter, identifier et compter des particules. On peut déterminer la charge Z , l'énergie des particules et mesurer des sections efficaces de réaction. Il se présente sous la forme de petites feuilles de quelques cm de côté et de quelques dixièmes de mm d'épaisseur (classiquement 0.7 mm et 1.4 mm). Le CR 39 est bon marché, beaucoup moins coûteux que les dispositifs de spectrométrie habituels. Son usage est relativement rapide, cependant, il ne permet pas de discerner les isotopes d'un même élément. Il s'agit bien entendu d'une détection "à posteriori" que l'on classe dans les dosimètres passifs (comme les films radiographiques).

Vu le grand nombre de traces à étudier, son utilisation nécessite un système d'analyse automatique.

2.2.1 Composition

Le *CR 39* est un polymère de formule $(C_{12}H_{18}O_7)_n$ présentant $2n$ groupes fonctionnels allyles. Ce plastique est dur, insoluble et ne fond pas. Il est souvent utilisé pour la fabrication des lunettes de soleil. Il résiste à tous les solvants mais il est extrêmement sensible aux dommages causés par les ions lourds.

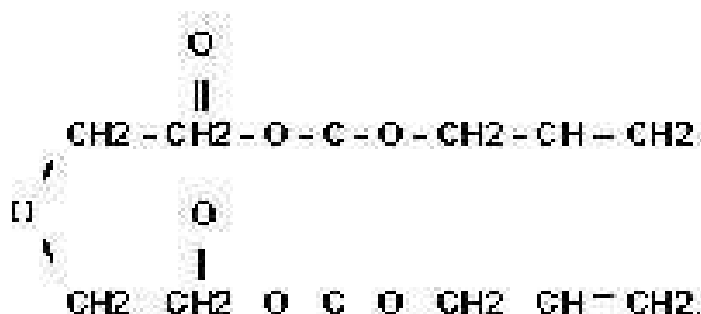


FIG. 2.1 – Composition du détecteur plastique *CR 39*.

2.2.2 Principes

Lors du passage des particules chargées dans le *CR 39* celles-ci déposent de l'énergie dans le plastique et cassent des liaisons polymères. Le long de leur parcours ces particules modifient les propriétés du *CR 39* (les régions endommagées deviennent chimiquement sensibles). Ces modifications induites se traduisent par une vitesse d'attaque chimique plus importante le long de la trace formée (v_T) qu'à l'extérieur (v_B). On note que v_T augmente avec le transfert d'énergie linéique ($T.E.L.$) de la particule. Un étalonnage approprié permet de passer du rapport v_T/v_B au $T.E.L.$. Dans chaque plan du plastique on observe donc des trous dont le diamètre dépend de la charge Z et de l'énergie de la particule. La figure 2.2 représente deux plaques de *CR 39* exposées à des ions Argons de 95 MeV/u.

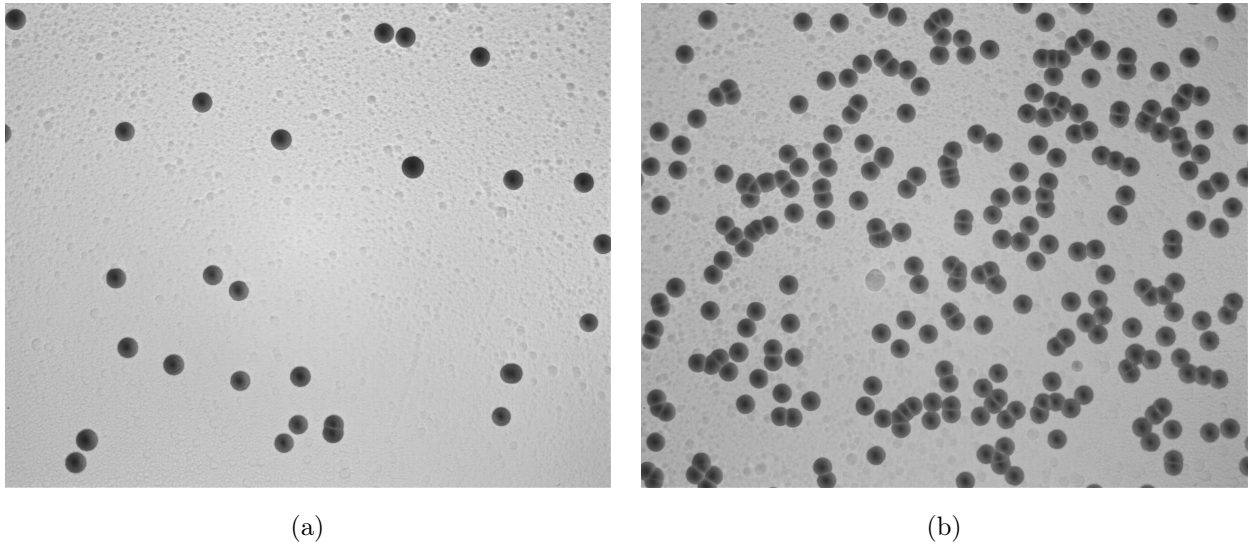


FIG. 2.2 – Ions Argon $95\text{MeV}/u$ à différentes fluences. 3.5×10^4 ions/ cm^2 (a) et 3.5×10^5 ions/ cm^2 (b)

2.2.3 Attaque chimique

Pour rendre ces traces exploitables, les feuilles de *CR 39* sont traitées selon un procédé de gravure électrochimique. Les plaques que nous avons utilisées ont été plongées dans une solution de KOH 12N pendant 8 h.

Le traitement chimique des feuilles est indispensable pour **révéler** les traces laissées par les particules chargées dans le *CR 39* et les analyser. Les conditions de développement, comme la concentration et la température de la solution, la durée de trempage sont propres à chaque expérience. Or celles-ci influent sur la taille des trous. Si on souhaite discerner les particules en fonction du trou laissé dans la plaque, une calibration est nécessaire. Dans les expériences de physique nucléaire, une feuille de *CR 39* est généralement placée entre le faisceau incident et la cible pour mesurer le diamètre des traces correspondant à une espèce d'ions connue. Après ce procédé de gravure, les plaques sont rincées à l'eau distillée et séchées. Le diamètre des traces est mesuré à l'aide d'un microscope optique.

Paramètres influants le diamètre des traces

Comme nous l'avons déjà mentionné, le diamètre des traces observées dépend de plusieurs paramètres :

- la charge de la particule incidente,
- l'énergie des particules (dans une moindre mesure),
- la concentration et la température de la solution chimique de gravure,
- la durée de trempage (gravure)

D'autres paramètres peuvent influencer sur la taille des traces comme :

- l'effet temporel (aging),
- l'effet réparation des dommages (fading).

L'aging effect est le temps entre l'exposition du CR 39 aux particules et le traitement chimique. Le fading effect est le temps entre le traitement chimique et l'analyse.

L'aging effect reste négligeable devant les autres paramètres. Le fading effect a une incidence inférieure à 10% sur la taille des trous.

2.2.4 Comptage automatique : le Scanning

Un microscope associé à un système d'analyse et de comptage automatique permet d'identifier les particules en mesurant la taille des trous. Le suivi plaque après plaque des trajectoires (tracking) permet également de remonter aux sections efficaces totales de fragmentation. Le CR 39 est un détecteur utilisé généralement en dosimétrie (pour la protection des spationautes) et l'identification des rayonnements cosmiques. Les tables de scanning que nous avons utilisées ont été mises en place à Lyon pour l'expérience OPERA (Oscillation Project with Emulsion tRacking Apparatus). Pour les besoins de cette expérience, de grandes surfaces d'émulsions devront être scannées de manière automatique.

Pour cela, l'équipe OPERA de l'IPNL dispose :

- Une platine motorisée :
 - Dans un plan XY sur lequel on dépose les émulsions de CR39.
 - Dans l'axe Z sur lequel est monté l'objectif.
- Une source de lumière réglable + un condenseur éclaire le système optique.
- Une camera CCD permet l'acquisition de l'image formée par l'objectif.

Pour la partie mécanique, il s'agit de table MICOS avec des vitesses de déplacement

- en XY de l'ordre de 3.5 cm/s
- en Z de 9 cm/s

La précision mécanique est de l'ordre de 0.1 micromètre. La caméra CCD (1024*1024 pixels) peut acquérir 20 images/s. Une carte d'acquisition MATROX permet de traiter 133 Mo/s. Ce système, dans sa conception, doit répondre à un critère strict d'efficacité de scanning (> 98%).

Lors de nos premières expériences de survie cellulaires, nous avons utilisé ces tables de numérisation pour compter le nombre de traces sur une surface de CR 39 donnée. A partir de ces données, nous déduisons aisément la fluence d'ions sur la plaque :

$$F(nb/cm^2) = \frac{nb}{(310\mu m \times 248\mu m \times 10^{-8})} \quad (2.2)$$

A partir de cette fluence, considérant les tables de pertes d'énergie linéique dE/dx en fonction de la vitesse des particules (Programme SRIM 2003) on peut calculer la dose sur la plaque :

$$D(Gy) = F(cm^{-2}) \times dE/dx(keV/\mu m) \times 1/\rho \times 1.6 \times 10^{-9} \quad (2.3)$$

ou ρ est la masse volumique du matériau.

2.3 Mesure de la dose par chambre d'ionisation

Plusieurs types de capteurs peuvent être utilisés pour la dosimétrie en radiothérapie externe :

- Chambre d'ionisation à cavité d'air,
- Dosimètre au sulfate ferreux,
- Dosimètres thermoluminescents,
- Films radiographiques... .

Seuls certains d'entre eux présentent les qualités requises pour la détermination de la dose absorbée de référence. A cause de leur stabilité à long terme, de leur haute précision, de l'ordre de 0.1% pour une chambre d'ionisation de bonne qualité (utilisée en clinique) de leur lecture temps réel (direct readout) et de leur relative facilité d'utilisation, les chambres d'ionisation sont devenues l'instrument standard pour les mesures de dosimétrie clinique.

Généralement, le détecteur de référence est la chambre d'ionisation à cavité d'air qui est connectée à un électromètre via un câble de mesure.

2.3.1 La théorie du détecteur idéal de Bragg Gray.

L'approche théorique de la dosimétrie selon les critères de Bragg-Gray (Spencer et Attix 1955) repose sur le concept d'une cavité, qui représente le détecteur, suffisamment petite de sorte que placée dans le milieu elle ne perturbe pas la fluence des particules chargées existant dans ce milieu.

Cela signifie que la cavité de Bragg-Gray (le détecteur) est de dimensions infinitésimales, comme un détecteur " ponctuel ".

Cette théorie suppose en effet que les dimensions de la cavité soient suffisamment petites pour ne pas perturber la fluence des particules chargées qui la traversent. On suppose ainsi que :

- Les électrons ne perdent qu'une fraction négligeable d'énergie en traversant la cavité
- Les interactions des photons dans la cavité sont en nombre négligeable Ce qui revient à dire que le diamètre de la cavité est petit devant :
 - le parcours des particules chargées qui la traversent,
 - le libre parcours moyen des photons.

Comme le montre la figure 2.3, Gray a basé sa théorie en comparant les ionisations dans le volume du détecteur (cavité d'air ou de gaz) et dans un volume équivalent de milieu non perturbé.

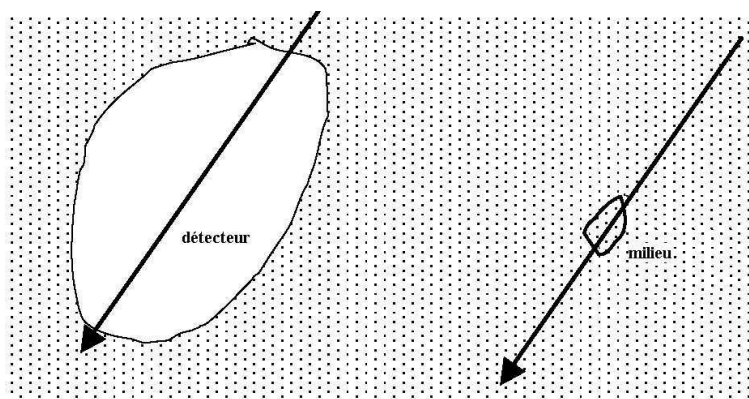


FIG. 2.3 – Principe du détecteur de Bragg-Gray. La théorie suppose que les particules cèdent la même quantité d'énergie dans le détecteur que dans le milieu non perturbé.

Les particules chargées traversant les deux volumes ont des trajectoires rectilignes et perdent la même quantité d'énergie (le détecteur ne perturbe pas la fluence). En pratique, ce détecteur parfait n'existe pas mais nombreux sont ceux qui en première approximation peuvent être traités comme des détecteurs de Bragg-Gray. Les corrections à apporter à la réponse de ces détecteurs ont été largement traitées (ICRU 1984), (Carlsson 1985). Ces corrections sont généralement regroupées dans un facteur de perturbation.

2.3.2 Principe de fonctionnement de la chambre d'ionisation.

Une chambre d'ionisation pour la dosimétrie clinique consiste typiquement en :

- Une fine paroi de graphite d'épaisseur 0.5 mm entourant un petit volume d'air (typiquement 0,6 cm³)
- Une électrode centrale en graphite ou en aluminium.
- Grace à la HT appliquée entre la paroi externe et l'électrode centrale on collecte les charges produites dans l'air par les rayonnements.

La figure 2.4 représente une chambre d'ionisation à cavité d'air. Lorsqu'un rayonnement ionisant traverse la chambre, des ionisations sont générées dans l'air de la cavité. Une grande différence de potentiel appliquée entre la paroi externe et l'électrode centrale permet de collecter les charges créées. La charge totale collectée est proportionnelle aux ionisations générées dans la cavité de la chambre. Ce nombre d'ionisations est directement relié à la dose déposée dans la cavité d'air.

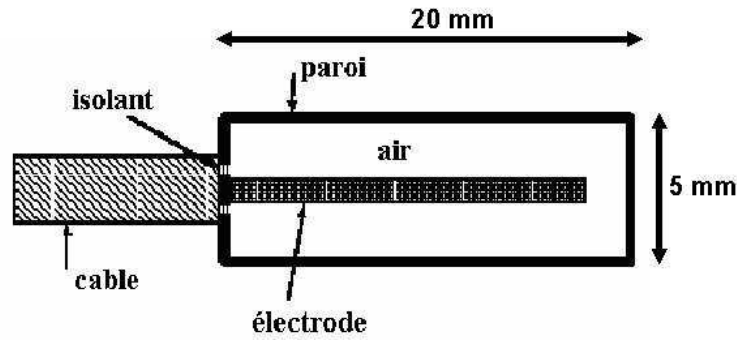


FIG. 2.4 – Schéma de principe d'une chambre d'ionisation cylindrique.

La haute tension (typiquement 300 V) est suffisamment haute pour que les charges produites soient collectées mais pas suffisamment haute pour que :

- L'accélération n'induit pas d'ionisations supplémentaires au phénomène naturel de cascades électroniques.
- Une seule particule chargée entrant dans le détecteur cause une avalanche et donc un pulse comme c'est le cas d'un compteur Geiger-Muller.

Pour les photons et les électrons de haute énergie utilisés en radiothérapie, la chambre d'ionisation est toujours placée dans un matériau équivalent tissu (eau ou fantôme solide) pour mesurer la dose absorbée dans ce matériau en utilisant la théorie de la cavité de Bragg-Gray.

Ce matériau peut être soit un simple capuchon d'équilibre électronique, si la mesure est faite dans l'air, soit un fantôme plastique ou d'eau qui est pris comme approximation du corps humain.

Dans tous les cas, les ionisations dans la cavité d'air sont essentiellement générées par des électrons qui proviennent du matériau environnant (capuchon ou fantôme).

L'utilisation de la chambre d'ionisation en dosimétrie est permise du fait que lorsqu'un électron se ralentit et perd de l'énergie dans l'air, le nombre de charges qu'il produit par unité d'énergie cédée dans l'air est, en bonne approximation, une constante indépendante de l'énergie de l'électron.

Ce qui signifie que nous pouvons écrire la relation directe entre la charge générée dans l'air (Q_{air}) et l'énergie perdue par l'électron dans l'air (E_{air}).

$$E_{air} = \frac{W}{e} \times Q_{air} \quad (2.4)$$

Et où W/e est l'énergie moyenne requise pour créer une paire d'ions par charge électronique

2.3.3 Réponse d'une chambre d'ionisation

Le passage entre la réponse de la chambre d'ionisations à cavité d'air et la dose absorbée n'est pas aussi simple que cela.

Cela suppose en effet que :

1. Toutes les charges créées sont effectivement collectées (c'est à dire qu'il n'y ait pas de recombinaison entre les charges positives et négatives.)
2. La masse de l'air dans la chambre est invariable et parfaitement connue, ce qui dépend bien entendu de la température, de la pression et de l'humidité de l'air ambiant.
3. Que la cavité soit suffisamment petite pour appliquer la théorie de Bragg-Gray.
4. Que la paroi de la chambre ne modifie pas la fluence des particules chargées dans le milieu.

Les corrections liées à ces hypothèses sont généralement clairement précisées dans les protocoles internationaux de dosimétrie et nous les détaillerons par la suite.

2.3.4 Les critères de choix d'une chambre d'ionisation

L'ensemble " chambre-cable-électromètre " constitue une chaîne de mesure. Dans chaque service de radiothérapie, se trouvent au minimum une chaîne de mesure de référence et une chaîne de mesure de routine. La chaîne de mesure de référence est étalonnée tous les 3 ans dans un laboratoire secondaire d'étalonnage accrédité.

L'instrument de référence doit répondre à plusieurs critères :

- Le capteur doit avoir de petites dimensions et les caractéristiques géométriques et physiques (dimensions et composition des matériaux) doivent être connues,
- L'instrument doit avoir un certificat d'étalonnage en cours de validité (moins de 3 ans),
- La réponse de l'instrument de référence doit être peu dépendante des grandeurs d'influence liées au faisceau.
- La répétabilité et la reproductibilité de l'instrument doivent être compatibles avec l'exactitude souhaitée pour les étalonnages.
- Le courant de fuite et les courants parasites doivent être négligeables par rapport à la réponse du détecteur.

2.3.5 Rappel des notations utilisées

Dans les paragraphes qui vont suivre, les notations suivantes seront adoptées :

- X_{Q_0} est un paramètre relatif au faisceau de référence, c'est à dire sur lequel un laboratoire primaire d'étalonnage a déterminé une grandeur dosimétrique à l'aide d'un dosimètre de référence.
- X_Q est un paramètre relatif au faisceau de routine. C'est à dire au faisceau sur lequel on souhaite déterminer la dose absorbée de référence avec la chaîne de mesure étalonnée.

2.4 Détermination de la dose absorbée dans les faisceaux de photons.

Nous rappelons ici les grandes lignes du formalisme de détermination de la dose absorbée recommandée par le protocole IAEA 398 (Andreo, Burns, Hohlfeld, et al. 2000).

2.4.1 Grandeurs et unités applicables aux rayonnements ionisants.

La dose absorbée se définit comme l'énergie absorbée par unité de masse de milieu irradié .

$$D = \frac{d\bar{\varepsilon}}{dm} \quad (2.5)$$

ou $d\bar{\varepsilon}$ est l'énergie moyenne impartie au milieu par les rayonnements ionisants et par unité de masse dm . La masse dm peut être très petite mais ne doit pas être telle que $d\bar{\varepsilon}$ puisse subir des fluctuations statistiques.

La dose absorbée peut être définie dans tous les milieux et avec tous les types de rayonnements. On peut noter que la dérivée de cette fonction par rapport au temps donne le débit de dose.

$$\dot{D} = \frac{dD}{dt} \quad (2.6)$$

Lorsque l'on considère des particules indirectement ionisantes, comme les photons, il est également commode de décrire l'énergie cédée au milieu par les particules lors de leur interaction avec la matière. Cette grandeur, appelée KERMA (pour Kinetic Energy Released in Material per unit mass) représente l'énergie initiale de tous les électrons produits dans le milieu.

$$K = \frac{dE_{tr}}{dm} \quad (2.7)$$

dE_{tr} est la somme des énergies cinétiques initiales de toutes les particules chargées libérées par l'interaction des particules non chargées avec la masse dm de milieu. L'unité pour le KERMA est le J/kg soit encore le Gray (Gy).

Le kerma est étroitement relié à l'exposition X par la relation :

$$X = \frac{dQ}{dm} \quad (2.8)$$

ou dQ est la charge totale, en valeur absolue, des ions d'un signe donné (positif par exemple) produits dans la masse dm d'air lorsque tous les électrons libérés par les photons (dans l'air) sont complètement arrêtés dans l'air. L'unité pour l'exposition est le C/kg. On trouve cependant encore l'ancienne unité : le Roëntgen.

$$1R = 2,5810^{-4}C/kg.$$

D'après les équations 2.7 et 2.8, nous constatons que l'exposition X représente l'ensemble des ionisations dans l'air (défini par le kerma dans l'air) moins l'énergie dissipée par rayonnement de freinage. Ce qui s'exprime suivant la relation :

$$X = K_{air} \times (1 - g) \times \frac{w}{e} \quad (2.9)$$

Avec :

- g la fraction d'énergie dissipée par rayonnement de freinage.
- W/e , l'énergie moyenne requise pour créer une paire d'ions par charge électronique

2.4.2 Spécification de la qualité d'un faisceau de rayonnement

La connaissance de la qualité d'un faisceau de rayonnement est nécessaire pour choisir les paramètres dosimétriques tel que le pouvoir d'arrêt massique (S/ρ) , les coefficients d'absorption massique (μ_{en}/ρ) et les facteurs de perturbation P_Q .

- Si le faisceau de rayonnement est issu de l'émission d'un radionucléide, la qualité du faisceau est entièrement déterminée par la spécification du radionucléide (c'est le cas des photons gamma du cobalt 60).
- Pour les photons X issus d'un accélérateur linéaire médical, la qualité du faisceau est déterminée par un indice de qualité I caractérisant l'atténuation du faisceau dans le milieu de référence : L'eau.

$$I = TPR_{10}^{20} \quad (2.10)$$

Où TPR_{10}^{20} est le rapport des ionisations mesurées à une profondeur de 20 cm et à 10 cm dans les conditions représentées par le schéma 2.5.

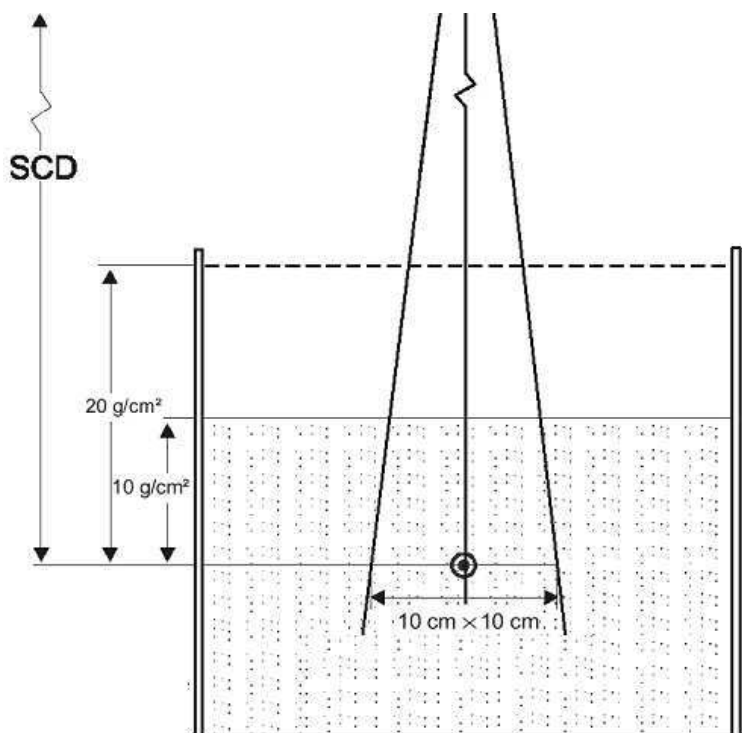


FIG. 2.5 – Condition de mesure de l'indice de qualité d'un faisceau de photons de hautes énergies.

2.4.3 Géométrie de l'irradiation.

La spécification de la qualité d'un faisceau de rayonnement fixe les conditions de référence dans lesquelles la détermination de la dose absolue doit être réalisée.

Si l'indice de qualité du faisceau est inférieur ou égales à 0,7 alors les conditions de référence sont les suivantes :

- Champ carré de 10 cm par 10 cm.
- Distance source-axe de mesure de 100 cm
- Profondeur de mesure : 5 cm d'eau

Si l'indice I est supérieur à 0,7 alors les conditions précédentes restent valables exceptée la profondeur de mesure qui passe de 5 cm à 10 cm, soit :

- Champ carré de 10 cm par 10 cm.
- Distance source-axe de mesure de 100 cm
- Profondeur de mesure : 10 cm d'eau

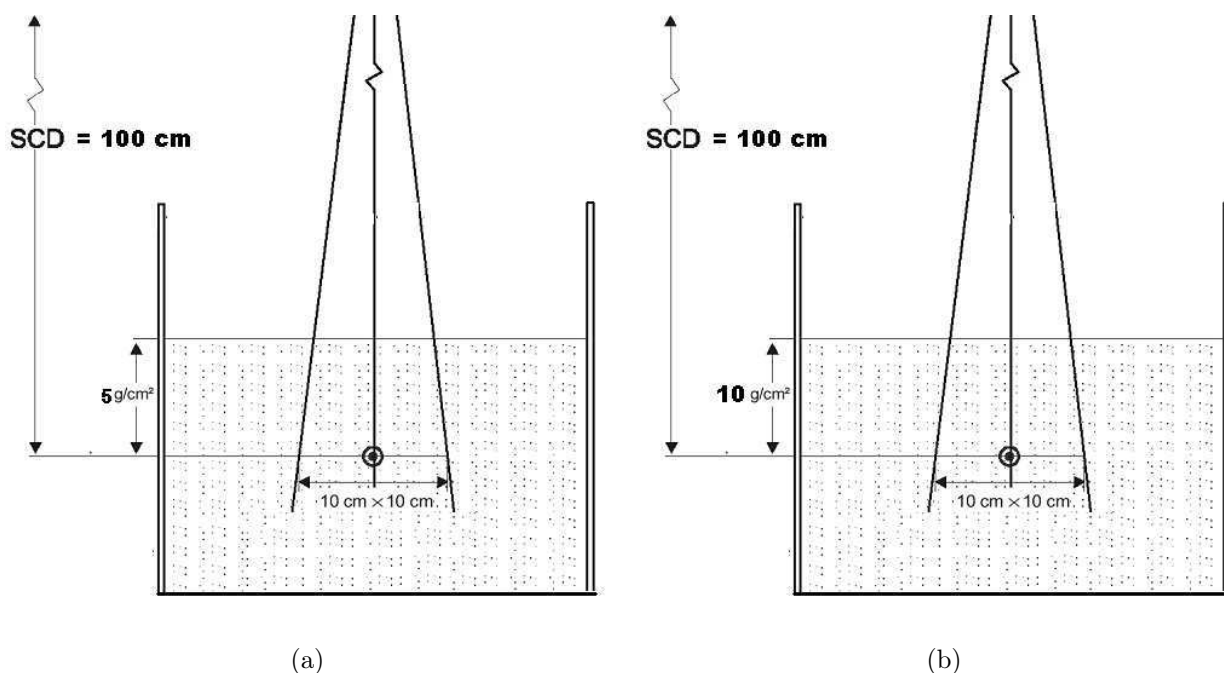


FIG. 2.6 – (a) Condition de référence si $I \leq 0.7$ et (b) Condition de référence si $I > 0.7$. (Géométrie d'irradiation dans les conditions de références)

Les schémas 2.6 a) et 2.6 b) représentent les conditions de références pour la détermination de la dose absorbée.

2.4.4 Le coefficient d'étalonnage de la chaîne de mesure.

L'étalonnage de la chaîne de mesure de référence est réalisé dans un laboratoire secondaire d'étalonnage. Cet étalonnage peut être donné suivant plusieurs grandeurs dosimétriques à la demande de l'utilisateur.

On trouve les grandeurs dosimétriques suivantes :

- Kerma dans l'air pour un faisceau de cobalt 60
- Dose dans l'air pour un faisceau de cobalt 60
- Dose dans l'eau pour un faisceau de cobalt 60
- Dose dans l'eau pour un faisceau d'accélérateur médical d'indice de qualité donnée.

Les conditions dans lesquelles l'étalonnage est effectué sont clairement spécifiées par les laboratoires de métrologie. Ces conditions garantissent que le coefficient peut être utilisé, dans ces conditions, sans autres facteurs correctifs.

Sont ainsi spécifiés :

- La géométrie de l'irradiation.
- Taille du champ
- Distance à la source
- Profondeur de mesure

- Nature du milieu de référence (air ou eau). En général le milieu de référence est l'eau mais dans certaines conditions, on peut utiliser des fantomes solides équivalents à l'eau. Pour les faisceaux de photons et d'électrons de hautes énergies, on trouve plusieurs matériaux solides utilisables en dosimétrie comme la lucite, les plastiques type PMMA. Dans ce cas, il convient de corriger la profondeur de mesure en fonction du matériau utilisé.
- La température, la pression et l'humidité du milieu. Les conditions de mesures sont systématiquement ramenées aux conditions normales de température et de pression, c'est à dire 20°C et 1013.25 millibar. Dans d'autres conditions de température et pression il faut utiliser le facteur correctif $K_{t,p}$, défini par la relation :

$$K_{t,p} = \frac{1013.25}{P_{exp}} \times \frac{(273.15 + t_{exp})}{(273.15 + 20.0)} \quad (2.11)$$

où P_{exp} et t_{exp} sont respectivement la pression et la température dans les conditions expérimentales.

A partir d'un dosimètre de référence (calorimètre graphyte, dosimètre chimique de Fricke ...) les laboratoires primaires d'étalonnage déterminent pour le faisceau de référence, indice Q_0 , les grandeurs dosimétriques citées précédemment.

Le facteur de calibration en terme de kerma dans l'air, N_{K_{air},Q_0} de la chaîne de mesure est déterminé, sur le faisceau de référence, selon la relation 2.12 :

$$K_{air,Q_0} = M_{Q_0} \times N_{K_{air},Q_0} \quad (2.12)$$

- N_{K_{air},Q_0} est le facteur d'étalonnage de la chaîne de mesure en terme de kerma dans l'air.
- Ou M_{Q_0} est la lecture obtenue sur l'électromètre de la chaîne de mesure corrigée des facteurs d'influences :

$$M_{Q_0} = M \times K_{t,p} \times k_{rec} \times k_{pol} \quad (2.13)$$

Avec

- $k_{t,p}$ facteur correctif des conditions de température et de pression,
- k_{rec} facteur correctif pour tenir compte des recombinaisons de charges dans la chambre d'ionisations,
- k_{pol} facteur correctif pour tenir compte de l'effet de polarité de la chambre d'ionisation.

La relation 2.14 est utilisée pour déterminer le facteur d'étalonnage de la chaîne de mesure en terme de dose dans l'eau :

$$D_{eau,Q_0} = M_{Q_0} \times N_{D_w,Q_0} \quad (2.14)$$

N_{D_w,Q_0} est le facteur d'étalonnage de la chaîne de mesure en terme de dose dans l'eau.

2.4.5 Détermination de la dose absolue dans le faisceau de routine

La détermination de la dose absolue avec les faisceaux de routine se fait par l'application du formalisme suivant (IAEA 398 et 381) (Andreo, Burns, Hohlfeld, et al. 2000).

A partir du coefficient d'étalonnage en terme de kerma dans l'air :

Si on se place dans le faisceau de référence, la dose dans l'air, en l'absence d'instrument de mesure, est donnée par la relation :

$$D_{air} = K_{air} \times (1 - g) \quad (2.15)$$

Où g est la fraction d'énergie dissipée par rayonnement de freinage.

En général, cette fraction est égale à 0,3% soit 0,003. Donc $(1-g) = 0,997$

La dose dans l'air de la cavité d'une chambre d'ionisation, tenant compte du fait qu'il ne s'agit pas d'une cavité parfaite telle que définie par Bragg-Gray est donnée par :

$$D_{air} = K_{air} \times (1 - g) \times k_{att} \times k_m \times k_{cel} \quad (2.16)$$

Où

k_{att} est un paramètre prenant en compte l'absorption et la diffusion des photons dans les parois de la chambre d'ionisation.

k_m est un paramètre lié au fait que la paroi de la chambre ainsi que son capuchon d'équilibre électronique ne sont pas équivalents à l'air.

k_{cel} est un paramètre prenant en compte la non équivalence à l'air de l'électrode centrale de la chambre d'ionisation.

k_m , k_{att} et K_{cel} sont tabulés pour les chambres d'ionisation de référence les plus courantes. Dans le protocole IAEA 398, ces trois facteurs sont regroupés en un seul facteur de perturbation noté P_Q

A partir de l'équation 2.16 et du coefficient d'étalonnage en kerma dans l'air, N_{K_{air}, Q_0} , on obtient facilement le coefficient d'étalonnage, N_{D_{air}, Q_0} , de la chambre d'ionisation **en terme de dose dans la cavité d'air** :

$$N_{D_{air}, Q_0} = N_{K_{air}} \times (1 - g) \times k_m \times k_{att} \times k_{cel} \quad (2.17)$$

Si on considère que le facteur N_{D_{air}, Q_0} , déterminé dans un faisceau de cobalt60, s'applique également dans le faisceau de routine alors la dose moyenne dans l'air de la cavité est donnée par :

$$D_{air, Q} = M_Q \times N_{D_{air}, Q_0} \quad (2.18)$$

La dose dans l'eau, toujours dans le faisceau de routine, est alors donnée par la relation :

$$D_{wQ}(P_{eff}) = M_Q \times N_{D_{air}, Q_0} \times S_{(w, air), Q} \times P_Q \quad (2.19)$$

Avec :

- $D_{wQ}(P_{eff})$ la dose mesurée dans l'eau, dans le faisceau de routine, avec la chambre d'ionisation placée au point effectif de mesure noté P_{eff} .
- $(S_{w,air})_Q$ est le rapport des pouvoirs d'arrêt de l'eau à l'air pour le faisceau de qualité Q.
- M_Q est la lecture de la chaîne de mesure corrigée des paramètres d'influences :

$$M_Q = M * K_{t,p} * K_{rec} * K_{pol} \quad (2.20)$$

$K_{t,p}$, que nous avons déjà présenté, est le coefficient pour ramener la mesure dans les conditions de température et de pression de référence.

$$K_{t,p} = \frac{273,15 + T}{(273,15 + T_0)} * \frac{P_0}{P} \quad (2.21)$$

K_{rec} est le coefficient pour prendre en compte les phénomènes de recombinaison

K_{rec} est déterminé avec la méthode de double tension

$$K_{rec} = a1 + a2 \frac{M_1}{M_2} + a3 \times \left(\frac{M_1}{M_2} \right)^2 \quad (2.22)$$

Ou M_1 est la lecture pour la tension V_1 et M_2 , celle pour la tension V_2 .

Les coefficients a_i sont tabulés dans les protocoles en fonction du type de faisceau utilisé (pulsé ou pulsé-scanné)

K_{pol} est le coefficient pour prendre en compte l'effet de polarité de la chambre.

$$K_{pol} = \frac{|M^+| + |M^-|}{2M} \quad (2.23)$$

Ou M^+ est la lecture pour la tension $+V$ et M^- , celle pour la tension $-V$.

P_Q est un facteur global de perturbation de la chambre d'ionisation dans les conditions de mesures.

P_{eff} est le point effectif de mesure. P_{eff} est situé en avant du centre géométrique de la chambre d'ionisation (par rapport à la source de rayonnement). En effet, comme nous l'avons précisé précédemment, une chambre d'ionisation ne peut pas être considérée comme une cavité d'air idéale dans le sens de Bragg-Gray. Sa présence dans le milieu de mesure (généralement un fantôme d'eau) modifie la fluence des photons et des électrons.

Cet effet est corrigé par :

- l'application du facteur de perturbation P_Q
- par l'utilisation d'un point effectif de mesure pour prendre en compte l'étendue de la cavité d'air de la chambre ce qui corrige le gradient de fluence à l'intérieur de la cavité.

Le schéma 5.3 représente la correction du point du mesure. On constate que pour effectuer une mesure à la profondeur z_{ref} il faut placer le centre géométrique de la chambre à $z_{ref} + d_c$.

d_c étant le déplacement radial du point effectif de mesures :

$$d_c = 0.6 \times r \quad (2.24)$$

avec r le rayon interne de la chambre d'ionisation.

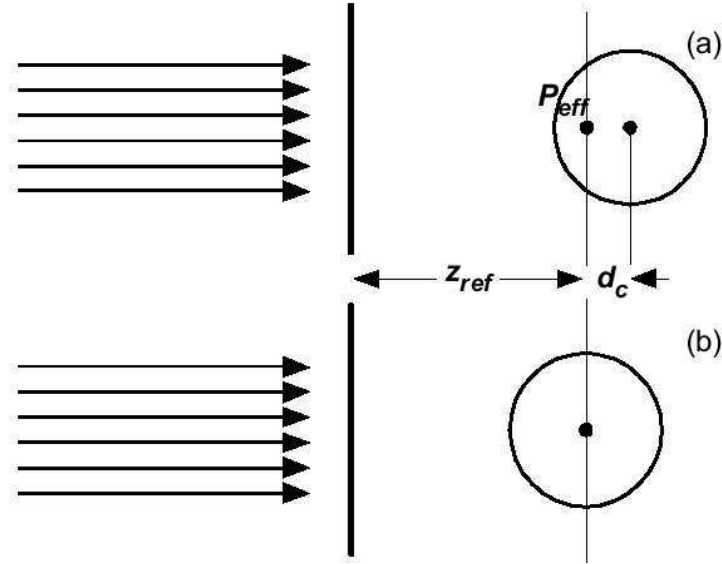


FIG. 2.7 – Illustration du déplacement radial du point effectif de mesure.

A partir du coefficient d'étalonnage en terme de dose dans l'eau :

La détermination de la dose absolue, dans le cas d'un étalonnage en terme de dose dans l'eau, est beaucoup plus directe .

Le laboratoire d'étalonnage peut directement exprimer le coefficient de calibration de la chaîne de mesure en terme de dose dans l'eau.

En effet, à partir des dosimètres de référence (FRICKE, CI, calorimètre..;), le laboratoire primaire d'étalonnage détermine dans le faisceau de référence la dose dans l'eau, à la profondeur de référence, et en l'absence de chambre d'ionisation.

En interposant la chambre d'ionisation à étalonner dans le faisceau de référence, on détermine le coefficient d'étalonnage par la relation :

$$D_{w,Q_0} = M_{Q_0} * N_{D_{w,Q_0}} \quad (2.25)$$

Où M_{Q_0} est la lecture de l'électromètre dans les conditions de référence du laboratoire (géométrie de l'irradiation, température pression et humidité)

La détermination de la dose dans l'eau, dans le faisceau de routine est donnée par :

$$D_{w,Q} = M_Q * N_{D_W,Q_0} * K_{Q,Q_0} \quad (2.26)$$

Et où le facteur K_{Q,Q_0} est un facteur spécifique de la chambre d'ionisation qui corrige des différences de réponse de cette dernière entre le faisceau de référence Q_0 et le faisceau de routine Q .

K_{Q,Q_0} peut être déterminé expérimentalement si le faisceau de routine est lui même calibré par un instrument de référence.

Dans ce cas, K_{Q,Q_0} représente le rapport des coefficients d'étalonnage que l'on obtiendrait pour une chaîne de mesure donnée dans un faisceau de cobalt et dans le faisceau de routine.

$$K_{Q,Q_0} = \frac{N_{D_Q}}{N_{D_{Q_0}}} \quad (2.27)$$

où N_{D_Q} est le coefficient d'étalonnage de la chambre d'ionisation déterminé dans le faisceau de routine et $N_{D_{Q_0}}$ le coefficient d'étalonnage de la chambre d'ionisation déterminé dans le faisceau de référence. Bien souvent le facteur K_{Q,Q_0} ne peut pas être mesuré directement. L'expression suivante permet de le calculer numériquement :

$$K_{Q,Q_0} = \frac{S_{(w,air),Q}}{(S_{(w,air),Q_0})} \times \frac{W_{air,Q}}{W_{air,Q_0}} \times \frac{P_Q}{P_{Q_0}} \quad (2.28)$$

Où $(S_{(w,air),Q})/(S_{(w,air),Q_0})$ est le rapport de pouvoir d'arrêt de l'eau à l'air donné par Spencer et Attix (Spencer et Attix 1955)

$W_{air,Q}/W_{air,Q_0}$ est le rapport de l'énergie moyenne nécessaire pour créer une paire d'ions dans le faisceau de référence et dans le faisceau de routine.

P_Q est un facteur global de perturbation qui tient compte de l'écart par rapport au détecteur idéal de Bragg-Gray.

On note que pour le faisceau de référence,

$$W_{air}/e = 33,97 J/C \text{ (Andreo, Burns, Hohlfeld, et al. 2000).}$$

$$S_{w,air} = 1,133 \text{ comme calculé par Andréo et Al. (Andreo, Burns, Hohlfeld, et al. 2000).}$$

2.5 Détermination de la dose absorbée dans les faisceaux de particules lourdes chargées

Outre les critères de choix du détecteur pour une utilisation avec des photons, déjà présentés, la dosimétrie des faisceaux de particules impose certaines contraintes spécifiques pour tenir compte des propriétés particulières des particules lourdes.

En particulier le détecteur doit avoir un volume sensible de petites dimensions afin de prendre en considération les gradients de dose élevés rencontrés dans la distribution de dose en profondeur (notamment au niveau du pic de Bragg). De plus, le détecteur doit présenter un faible taux de recombinaison

vu les débits de dose élevés qui peuvent être utilisés. L'idéal est que la réponse de ce détecteur soit peu dépendante de l'énergie du faisceau et de son transfert d'énergie linéique. Classiquement, les chambres d'ionisations les plus couramment utilisées pour ce type d'application ont une paroi en équivalent tissu (A-150) et sont remplies d'air ou de gaz équivalents tissus. Elles peuvent être planes à faces parallèles avec une faible distance inter électrode ou de type cylindrique de petit volume sensible. On trouve essentiellement dans les centres de protonthérapie des chambres FAR WEST TECHNOLOGIE IC18 ou IC 17 et des chambres EXRADIN T1 ou T2.

En pratique la détermination de la dose absorbée dans l'eau s'obtient à partir de la réponse M_c de la chambre d'ionisation corrigée des grandeurs d'influences par l'intermédiaire d'un coefficient d'étalonnage. Le coefficient d'étalonnage N_c est obtenu par référence soit au calorimètre, soit au cylindre de Faraday, soit le cas le plus fréquent dans un faisceau de photons gamma du cobalt 60 étalonné en terme de kerma dans l'air par un centre d'étalonnage (N_k). Dans ce dernier cas, le passage à la dose absorbée dans l'eau s'effectue par application du formalisme recommandé dans les protocoles internationaux. Le formalisme pour les particules lourdes chargées est très proche de celui pour les photons et les électrons.

Notre choix s'est porté vers une chambre cylindrique de petit volume EXRADIN T1. Cette chambre est notamment utilisée au centre de protonthérapie de Nice et satisfait pleinement les contraintes de notre cahier des charges et notamment le fait que les dimensions des faisceaux d'irradiation disponibles au GANIL sont réduites.

Le formalisme présenté par le rapport IAEA 398 est adapté aux mesures dans les faisceau d'ions de numéro atomique compris entre 2 et 18 et dont le parcours est compris entre 2 cm et 30 cm d'eau.

Comme nous l'avons présenté précédemment, la distribution de dose d'un faisceau d'ions mono énergétiques dans l'eau est caractérisée par un étroit pic de Bragg à la fin du parcours des particules primaires. Pour les applications cliniques des ions, un pic de Bragg élargi est nécessaire (SOBP pour Spread Out Bragg Pic).

Dans notre cas, nous n'avons pas de pic de Bragg étalé mais nous travaillons en " segment de trace ", plus précisément sur le plateau de la courbe de Bragg. Pour ces raisons, nous disposons notre chambre de mesure à l'entrée du plateau. On remarque que du fait qu'il s'agisse d'un faisceau de particules directement ionisantes, la chambre d'ionisation peut être placée dans l'air sans capuchon d'équilibre électronique.

Le formalisme utilisé est le même que celui présenté pour le cas des photons et la dose absolue dans une petite masse d'eau dans l'air est obtenu par la relation :

$$D_{w,Q} = M_Q * N_{D,Q_0} * K_{Q,Q_0} \quad (2.29)$$

Et ou M_Q est la lecture de la chaîne de mesure corrigée des paramètres d'influences.

$$M_Q = M * k_{t,p} * k_{rec} * k_{pol} \quad (2.30)$$

A l'heure actuelle, comme la spécification de la qualité des faisceaux d'ions n'est pas précisée, le

paramètre K_Q dépend uniquement du type de chambre utilisée. De plus aucune valeur expérimentale de K_Q n'est disponible à ce jour et nous utilisons donc une valeur théorique de K_Q définie par la relation 2.28.

Pour notre chambre "Exradin T1 mini Shonka" nous utilisons un facteur K_Q de 1,007 comme stipulé dans le rapport 398 et qui fait référence à un étalonnage dans un faisceau du cobalt 60, ce qui est notre cas.

Les rapports des S/ρ et des W sont considérés indépendants de la qualité du faisceau et du type d'ions utilisés du fait du manque de donnée expérimentale. La contribution des fragments nucléaires au S/ρ et à W est également considérée comme négligeable. (Dans nos conditions d'expérience, c'est vraisemblablement le cas car nous sommes en tout début de parcours des particules).

On utilise un rapport des $(S_{(w,air),Q} = 1,130$ et un rapport des $(W/e)_Q = 34,50 \text{ eV}$.

2.6 Mesure de la dose par films radiographiques

Si les chambres d'ionisations sont les détecteurs privilégiés pour la détermination absolue de la dose absorbée, elles ne donnent cependant qu'une mesure " ponctuelle " de l'ensemble du champ d'irradiation. Une image de l'homogénéité du faisceau d'irradiation est bien souvent indispensable. Classiquement on utilise des chambres d'ionisation montées sur un support mobile (explorateur de fantôme d'eau) qui permettent de réaliser des profils des faisceaux d'irradiations. On peut utiliser des barrettes de chambres d'ionisation (typiquement 48 chambres d'ionisation espacées de 1 cm). Une technique moins onéreuse et beaucoup plus simple à mettre en place est la dosimétrie par films radiographiques. La dosimétrie par films est basée sur le noircissement du film proportionnellement à l'exposition. Pour une utilisation en dosimétrie absolue, il convient d'étalonner le noircissement (DO) en fonction de l'exposition (Dose). Comme nous le présentons, il s'agit d'un moyen simple de mesure de dose relative, comme le contrôle de l'homogénéité d'un faisceau d'irradiation par exemple. Si on procède à un étalonnage rigoureux des films radiographiques, on peut également déterminer la dose absolue reçue par le film avec une précision de l'ordre de 3%.

2.6.1 Matériel pour la dosimétrie par films

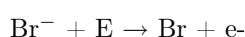
Pour nos expériences, nous disposons :

- Des films X-Omat V de Kodak,
- Des films EDR2 de Kodak
- D'un numériseur de films Vidar VXR-12 associé à un logiciel d'acquisition et de traitement d'image (RIT113 de RadImage).

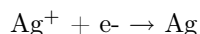
Les films radiographiques

Principe Le principe repose sur l'irradiation d'une émulsion photographique dont le résultat est la formation d'une image dite "*latente*" rendue visible par le processus de développement. L'émulsion photographique est composée de cristaux de Bromure d'Argent (AgBr) emprisonnés dans une gélatine. La taille des grains, de 0,5 à 3 μm de diamètre, et leur espacement, 5 μm en moyenne, constituent les propriétés dosimétriques du film. Ces paramètres conditionnent respectivement la sensibilité et la résolution spatiale des films qui est de 5 μm maximum pour les X-Omat V.

L'émulsion est déposée sur un support en acétate de cellulose ou en polyester. Lors de l'irradiation, l'énergie des photons incidents est transférée aux grains d'AgBr qui libèrent un électron :



Les électrons libérés sont captés au niveau du centre de sensibilité du cristal d'AgBr pour former un amas fortement électronégatif qui va attirer les grains d'Ag⁺ et les réduire en Argent :



formant ainsi un amas d'Argent représentant un point de l'image latente.

L'image latente est ensuite rendue visible par le processus de développement. On obtient ainsi l'image radiographique résultante.

Comme le montre la figure 2.8, au cours du développement, le film passe dans plusieurs bains :

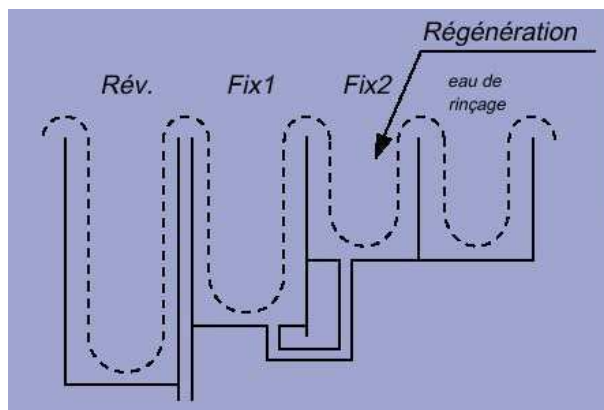


FIG. 2.8 – Principe du développeur automatique.

- un bain révélateur : composé d'un réducteur (hydroquinone) et d'un alcalin (carbonate de Na ou sulfate de Na) qui réduit la totalité des ions Ag⁺ en atomes d'Ag dans les cristaux de l'image latente. La température du révélateur est des plus critiques en ce qui concerne la stabilité des informations retournées.
- un bain d'arrêt : constitué d'acide ou d'eau pure comme c'est souvent le cas, qui stoppe l'action du révélateur.

- un bain fixateur : formé d'hyposulfite qui fixe l'Ag restant et élimine ainsi l'AgBr non transformé.
- un bain de lavage : qui élimine l'Ag restant dans la gélatine.

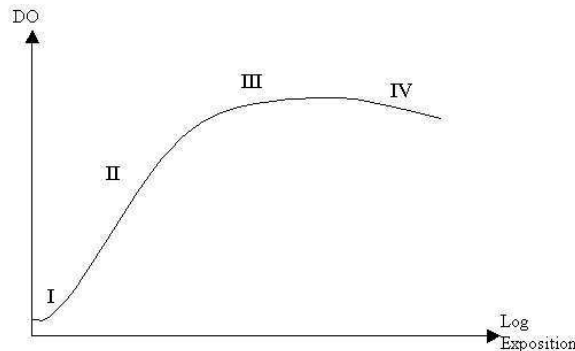


FIG. 2.9 – Courbe de réponse caractéristique des films X-OMATV.

La figure 2.9 présente la courbe caractéristique de réponse des films X-OMATV (densité optique en fonction de l'exposition).

Le numériseur Vidar VXR-12

Principe et fonctionnement Le Vidar VXR-12 (Vidar Systems Corporation Herndon, Virginia) est un numériseur de films 12-bits rapide (numérisation < 1min pour un film X-Omat V). Il est constitué d'une lampe fluorescente Philips (de type néon) émettant un large faisceau de lumière stabilisée. Le faisceau traverse un panneau de diffusion et est transmis au travers du film. Il est collimaté en un champ rectangulaire, couvrant toute la largeur du film, par un système de deux panneaux verticaux fixes et deux autres panneaux horizontaux mobiles. La lumière transmise est réfléchiée par un miroir vers une lentille focalisante et est détectée par une barrette de 5000 détecteurs CCD (*Charged Couples Device*) disposés linéairement. Le détecteur CCD lit ligne par ligne à 300 dpi (*dots per inch* = points par pouce) sur toute sa largeur utile de 14 pouces soit 35.6 cm et transforme le signal lumineux en signal électrique. Pour obtenir des résolutions de 150, 75 et 60 dpi le numériseur combine les données des pixels voisins. Le convertisseur Analogique-Numérique quantifie le signal analogique sur 8 ou 12 bits et stocke l'information sous forme de matrice. Un traitement ultérieur de ces matrices sera possible par l'intermédiaire d'un logiciel.

Après la mise sous tension du numériseur, un test complet est réalisé. Pendant ce test la barrette de détection est calibrée en utilisant un panneau interne. Cette calibration compense les variations de sensibilité entre pixels de proche en proche. Ce test peut également être exécuté par la suite dans le cas de variations des conditions extérieures comme la lumière ambiante, l'échauffement de l'appareil. Les fluctuations d'intensité lumineuse, engendrées par le vieillissement de la lampe fluorescente, sont automatiquement corrigées par un système de contrôle de retour optique. Ce système adapte la tension d'alimentation de la lampe pour stabiliser l'intensité lumineuse délivrée.

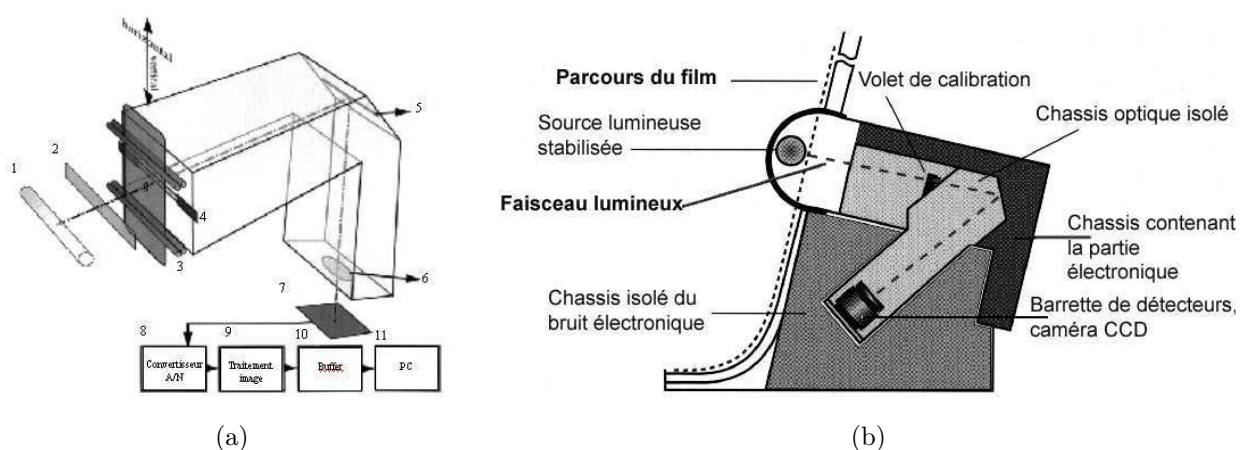


FIG. 2.10 – Schéma de principe du numériseur VIDAR VXR12.



FIG. 2.11 – Coin photographique étalon.

Caractéristiques

Résolution spatiale plus petite distance séparant deux points distincts de l'image

Gamme de Densité Optique (DO) de 0.01 à 3.0 OD (en pratique on constate une saturation à une DO de 2,8)

Modes de numérisation

DPI	μm	Paire de lignes / mm	Pixels(14"*17")
60	423	1.2	840*1020
75	339	1.5	1050*1275
150	169	3.1	2100*2550
300	85	5.8	4200*5100

- 12-bits (4096 niveaux de gris)
- 8-bits (256 niveaux de gris)
- noir et blanc

Tailles des films acceptées

- largeur : de 5" (127 mm) à 14" (360 mm)
- longueur : de 5" (127 mm) à illimitée
- épaisseur : de 0.006" (0.15 mm) à0.020" (0.51 mm)

Précision géométrique < 1% ou 2 pixels sur les deux axes

Vitesses maximales de numérisation (pour un film de 14"*17")

- 60 dpi → 11 secondes
- 75 dpi : → 13 secondes
- 150 dpi → 26 secondes
- 300 dpi → 52 secondes

Calibration du Vidar VXR-12

Le principe du densitomètre est basé sur la transmission de l'intensité lumineuse incidente à travers le film et sur la conversion de cette grandeur analogique en valeurs numériques (codage sur 12bits soit 2^{12} =4096 valeurs accessibles). Il est donc nécessaire d'étalonner les valeurs numériques retournées par le numériseur en fonction des différentes DO traversées.

Nous disposons d'un "*stepwedge*", ou coin photographique étalon (voir figure 2.11 p. 57) constitué de 32 échelons de DO étalonnés. Ce film est numérisé et le logiciel RIT 113 renvoie la valeur moyenne de la DO de chaque échelon associée à la valeur A/N correspondante. Ensuite les valeurs de DO des échelons sont comparées avec les valeurs de référence fournies avec le coin photographique et sont corrigées si nécessaire. Enfin une courbe ($DO=f(A/N)$) et un fichier (DO.cal) de calibration sont générés.

Étalonnage des films X Omat V

La mesure absolue de la dose absorbée, à partir de films radiographiques, passe au préalable par un étalonnage de la DO en fonction de la dose. Les films sont placés dans le faisceau d'irradiation, devant la chambre d'ionisation.

Les films sont ensuite développés et numérisés. Une région d'intérêt est sélectionnée pour chaque plage de dose et centrée sur l'axe du faisceau. La DO moyenne de la sélection est calculée et la valeur de la dose correspondante lui est associée. Un film non exposé est utilisé pour le niveau de dose 0 cGy (voile de fond). On obtient ainsi une relation entre la DO lue sur le film et la dose reçue par ce dernier. À partir de cette étape, le logiciel RII 113 peut calculer la dose absolue reçue par les films et nous pouvons également accéder aux profils de dose pour contrôler l'homogénéité du champ d'irradiation.

Les résultats obtenus lors de nos expériences sont présentés dans la troisième partie de ce manuscrit.

Chapitre 3

Description des effets biologiques des rayonnements ionisants

3.1 Rappel sur la structure des molécules d'ADN

Un brin d'acide désoxyribonucléique (ADN) est un polymère formé de l'union de nucléotides (cf. figure 3.1), un nucléotide comportant :

- Une base purique [Adénine (A) ou Guanine (G)] ou pyrimidique [Cytosine (C) ou Thymine (T)]
- Un sucre (le désoxyribose), qui est lié à la base en question,
- Un acide phosphorique lié pour sa part au sucre.

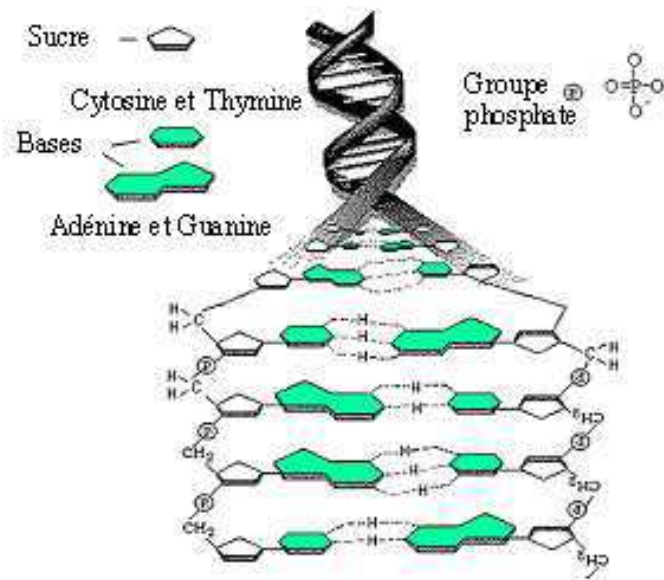


FIG. 3.1 – Schéma d'un fragment d'ADN.

Ces nucléotides sont assemblés entre eux par l'intermédiaire de liaisons covalentes qui joignent le sucre à l'acide phosphorique.

La molécule d'ADN est constituée de deux chaînes ou brins complémentaires qui sont unis entre eux par des liaisons hydrogène entre les bases des deux brins. Les bases s'associent de façon complémentaire, ainsi, en face d'une thymine sur une chaîne se trouve nécessairement une adénine sur l'autre ; de même qu'en face d'une guanine se trouvera une cytosine

3.2 Rappel sur le cycle cellulaire

Le cycle cellulaire des cellules eucaryotes supérieurs comprend quatre phases(cf figure 3.2). Durant deux de ces phases, phase S et phase M, les cellules exécutent les deux événements fondamentaux du cycle : réplication de l'ADN (phase S, pour synthèse) et partage rigoureusement égal des chromosomes entre les 2 cellules filles (phase M, pour mitose). Les deux autres phases du cycle, G1 et G2, représentent des intervalles ("Gap") : au cours de la phase G1, la cellule effectue sa croissance, intègre les signaux mitogènes ou anti-mitogènes et se prépare pour effectuer correctement la phases S ; au cours de la phase G2, la cellule se prépare pour la phase M

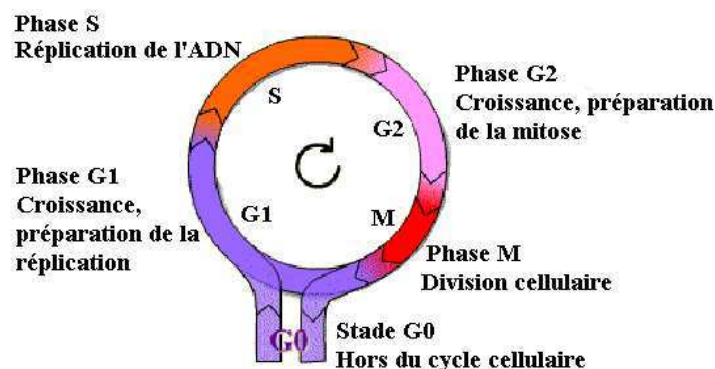


FIG. 3.2 – Les quatre phases du cycle cellulaire et le stade G0.

Dans un cycle, les quatre phases se succèdent dans un ordre immuable : G1, S, G2 et M. Les trois premières phases (G1, S, G2) constituent l'interphase, durant laquelle le noyau de la cellule est limité par une enveloppe nucléaire, alors que la mitose (M) est caractérisée par la disparition de cette enveloppe et par l'apparition des chromosomes. Après la mitose, les cellules peuvent soit passer en G1, soit entrer en G0, stade quiescent de non division.

3.3 Processus d'endommagement

Les effets biologiques des rayonnements ionisants résultent principalement des dommages causés sur la molécule d'ADN. Quelque soit la nature du rayonnement, l'interaction avec le milieu biologique, peut conduire à une **lésion directe** de cette molécule. En effet, les atomes de la molécule d'ADN peuvent directement être ionisés ou excités initiant ainsi une cascade d'évènements conduisant à un effet biologique. Cependant, les rayonnements peuvent alternativement interagir avec tous les autres atomes et molécules présents dans les cellules. Nous verrons notamment que les interactions des rayonnements sur les molécules d'eau, qui représentent une part importante de la composition cellulaire, conduisent à la production de radicaux libres oxygénés particulièrement agressifs pour la molécule d'ADN. On parlera alors d'**effets indirects** des rayonnements ionisants.

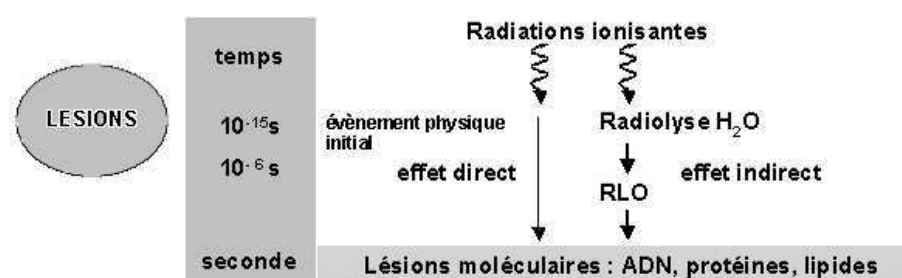


FIG. 3.3 – Effets directs et indirects des radiations ionisantes.

La figure 3.3 illustre les événements intervenant en réponse aux radiations ionisantes.

Les événements précoces sont les ionisations et les excitations qui se produisent le long de la trajectoire des particules. Ces événements vont conduire soit à un effet direct sur la molécule d'ADN, soit à un effet indirect. L'un et l'autre des effets vont engendrer finalement des modifications de la structure biologique qui peuvent conduire à la mort de la cellule.

La chronologie de ces différentes étapes est représentée sur la figure 3.4.

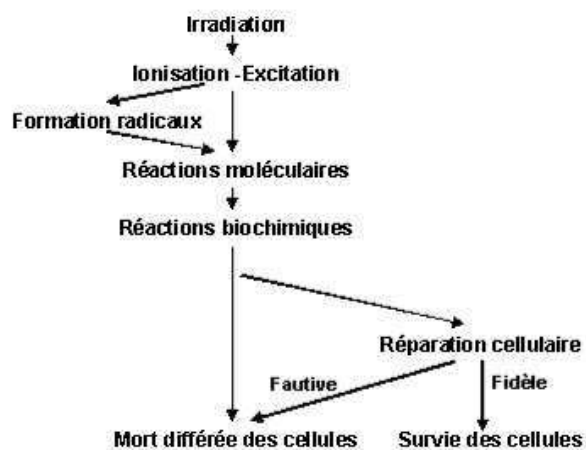


FIG. 3.4 – Chronologie des événements survenant après une irradiation.

3.3.1 Effet direct des rayonnements ionisants

Quelle que soit la nature du rayonnement, il y a une probabilité non nulle que l'interaction avec la matière biologique concerne directement la molécule d'ADN. Cette probabilité demeure faible avec les particules de faible *T.E.L.*. En effet, si on considère une solution concentrée d'ADN, par exemple à 1 mg/ml , l'eau représente encore 99,9 % de la masse. Dans ces conditions l'ADN ne subira en première approximation qu'une ionisation pour 1 000 produites sur l'eau (Spotheim-Maurizot, Bergusova, et Charlier 2003). Cependant, certains auteurs comme E.J HALL (Hall 2000) considèrent que le processus d'action des rayonnements ionisants, directement sur la molécule d'ADN, est le processus d'action dominant dans le cas des rayonnements de fort transfert d'énergie linéique.

Des travaux sur des composés modèles et sur l'ADN isolé ont montré que les effets directs (ionisation) et indirects du rayonnement γ conduisaient à la formation de bases modifiées identiques mais produites en quantités différentes (Decarroz, Wagner, Van Lier, et al 1986).

L'effet direct peut consister en un arrachement d'électron avec formation d'un cation radical. Cet effet direct peut concerner soit :

- les sucres composant la chaîne d'ADN (désoxyribose).
- les bases de l'ADN (Adénine, Guanine, Cytosine et Thymine)

Les lésions seront identiques à celles engendrées par effet indirect que nous détaillerons par la suite. Seules les concentrations des lésions seront différentes.

3.3.2 Effet indirect des rayonnements.

Comme nous l'avons souligné en introduction, les effets indirects sont ceux qui nécessitent une ou plusieurs étapes entre le site originel de l'interaction particule - matière et la lésion de l'ADN.

La radiolyse de l'eau

Etant donné qu'un organisme vivant est constitué de 80% d'eau, cette dernière est la cible privilégiée de l'action des rayonnements. Il est connu depuis Curie et Debierne en 1901, (Tubiana, Dutreix, et Wambersie 1986) que les rayonnements décomposent l'eau formant alors des radicaux libres qui peuvent diffuser suffisamment dans la cellule pour atteindre et endommager la molécule d'ADN. Un radical libre est un atome ou une molécule comportant un électron non apparié sur une couche électronique externe. En effet, non seulement les électrons tournent autour du noyau atomique (mouvement de révolution) mais ils tournent également sur eux même (spin de l'électron). Le spin de l'électron peut être dirigé dans le sens des aiguilles d'une montre spin ($1/2$) ou bien à l'opposé ($-1/2$). Dans les atomes disposant d'un nombre pair d'électrons il y a, en général, autant d'électrons de spin $1/2$ que d'électrons de spin $-1/2$ dans chaque orbitale. Cette configuration électronique est associée à un haut degré de stabilité. Au contraire, dans les atomes ou molécules disposant d'un nombre impair d'électrons, un électron des couches externes ne disposent pas d'un électron de spin opposé. On dit que cet électron est non apparié. Cette configuration est très instable et rend l'atome ou la molécule très réactive.

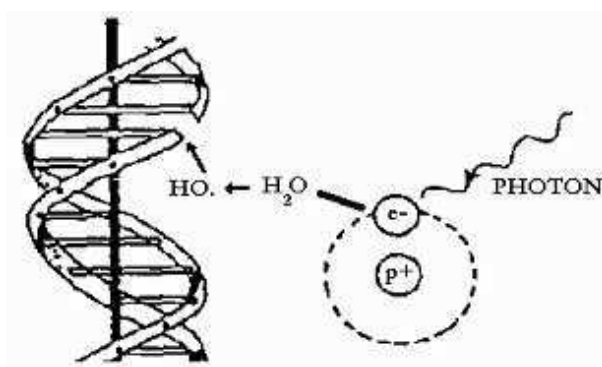


FIG. 3.5 – Effet indirect des rayonnements ionisants sur la molécule d'ADN.

Les différentes étapes, représentées schématiquement par la figure 3.5, peuvent être résumées de la façon suivante :

Dans le solvant

- Absorption des photons,
- Mise en mouvement d'électrons secondaires,
- Ionisation et excitation,
- Formation de radicaux.

Attaque des molécules du soluté

- Altérations dues à la rupture de liaisons,

- Réactions biochimiques,
- Effet biologique.

La radiolyse de l'eau est un phénomène complexe qui se déroule en de nombreuses étapes. Plusieurs d'entre elles conduisent à la formation de radicaux comme le montre la figure 3.6

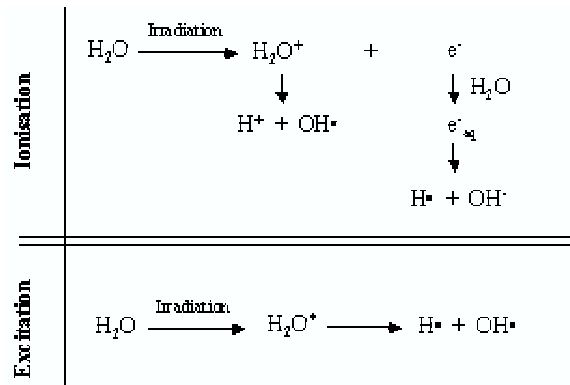


FIG. 3.6 – La radiolyse de l'eau.

Sur la figure 3.6 :

- L'astérisque symbolise l'état excité,
- Le point ajouté au radical représente l'électron non apparié,
- e^-_{aq} symbolise le groupement H_2O^- , il est encore appelé électron solvaté.

Réactions fondamentales Les phénomènes initiaux sont l'ionisation et l'excitation de la molécule d'eau :



Après cette première étape (10^{-15} seconde), une cascade d'événements survient en des temps très brefs.

H_2O^+ est un ion radical (il est électriquement chargé et dispose d'un nombre impair d'électrons)

La durée de vie de ces radicaux primaires est extrêmement courte, de l'ordre de 10^{-10} s.

Schématiquement, trois étapes peuvent être distinguées.

Etape prédiffusionnelle En un temps de l'ordre de 10^{-12} secondes, les molécules excitées et radicalaires engendrent les réactions suivantes :





Le radical OH^\bullet formé est un puissant oxydant. On estime que ce radical peut diffuser et atteindre la molécule d'ADN à partir d'un cylindre dont le diamètre est deux fois celui de la double hélice d'ADN (soit environ 4 nm). On remarque dans ce cas que les anti-radicaux diminuent fortement les effets biologiques des radiations de faible transfert d'énergie linéique. Ce qui signifie en d'autres termes qu'une majorité des effets sont produits par action indirecte des rayonnements de faible transfert d'énergie linéique.

Les électrons formés dans l'équation 3.1 vont être pris au piège par des molécules d'eau et deviennent des électrons aqueux ou solvatés (e_{aq}^-) de la manière suivante :



Cet ion négatif porte le nom d'électron solvaté.

L'ion H_2O^- se dissocie alors en :



En résumé, les réactions précédentes donnent naissance à la formation de radicaux hautement réactifs qui sont de deux types différents :

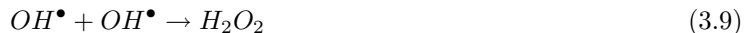
- **oxydants** : OH^\bullet
- **réducteurs** : e_{aq}^- et H^\bullet

Etape diffusionnelle Ces constituants vont entraîner la décomposition moléculaire de l'eau, c'est à dire qu'ils vont provoquer des réactions qui conduisent à la création de nouvelles molécules ou radicaux. Ainsi environ 10^{-7} secondes après le passage de la particule dans le milieu, on trouve des radicaux ou nouvelles molécules dispersés autour de la trajectoire de la particule ionisante. La proportion de ces derniers (OH^\bullet , H^\bullet , H_2O_2 et H_2) varie avec le type de particule. Notons la présence d'eau oxygénée H_2O_2 fortement réactive. Au cours de cette étape, des recombinaisons des produits de la radiolyse et une diffusion de ces produits sont observées.

Dans l'eau pure, en l'absence d'autres molécules, la seule possibilité pour les radicaux libres est de se combiner entre eux. Deux cas peuvent être distingués en fonction du transfert d'énergie linéique des particules incidentes :

- Le *T.E.L.* est très élevé. Etant donné que la densité d'ionisation est forte, les groupes OH^\bullet sont proches les uns des autres et il en est de même des radicaux H^\bullet . On a donc simultanément les trois types de réactions de recombinaisons suivantes :





Ceci permet de comprendre notamment la formation de H_2O_2 , même en l'absence d'oxygène lors de l'irradiation par des particules de fort *T.E.L.* (particules α par exemple).

- Le *T.E.L.* est faible. La probabilité de rencontre de deux radicaux OH^\bullet (ou deux radicaux H^\bullet) est faible. La seule recombinaison possible est donc la suivante :



Nous reviendrons ultérieurement sur l'effet oxygène en fonction du *T.E.L.* (voir paragraphe 4.3.3 p. 101).

Etape chimique Les réactions qui se produisent entre 10^{-6} et 10^{-3} secondes après le passage de la particule dépendent de plusieurs facteurs comme le transfert d'énergie linéique et la présence ou non d'oxygène dissout. Nous allons donc nous intéresser maintenant à l'effet oxygène.

Si nous supposons maintenant que de l'oxygène est dissout dans l'eau (ce qui est le cas des tissus vivants où il y a en moyenne 8×10^{17} molécules d' O_2 par cm^3), la probabilité d'une réaction entre H^\bullet et O_2 est importante.



Le radical HO_2^\bullet est beaucoup plus stable que H^\bullet et OH^\bullet . Lorsqu'il n'y a pas d'autres molécules dissoutes que O_2 , les radicaux HO_2^\bullet se recombinent entre eux :



On voit donc que lors de l'irradiation de l'eau par les rayonnements de bas *T.E.L.* (cas des X et γ) la présence de l'oxygène favorise l'apparition d'oxydants très puissants H_2O^\bullet et H_2O_2 .

De la même manière que l'oxygène dissout dans l'eau pure conduit à la formation du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , les solutions organiques R-H produisent des peroxydes $R-O_2H$ (Gremy et Perrin 1977) en présence d'oxygène :





Ces peroxydes peuvent persister longtemps après l'irradiation.

Effet oxygène Tous ces radicaux sont toxiques, et sont favorisés par la présence d'oxygène (équations 3.11 et 3.14) d'où l'effet sensibilisant de celui-ci. En d'autres termes, la présence d'oxygène permet d'accroître l'efficacité biologique des rayonnements en favorisant la formation de peroxydes.

Cet effet oxygène est particulièrement important dans le traitement des tumeurs par radiothérapie conventionnelle (avec les photons ou les électrons). En effet, les cellules tumorales se développent de manière anarchique et bien souvent le cœur d'une masse tumorale se trouve ainsi mal vascularisé. Les cellules cancéreuses sont alors en conditions hypoxiques et l'efficacité du traitement par radiothérapie est alors diminué par manque d'oxygène. Dans certains cas, on peut tenter de réoxygéner ces cellules en augmentant la teneur en oxygène de l'air inspiré (oxygène-thérapie précédant la radiothérapie). Dans le cas des rayonnements de fort *T.E.L.*, l'effet oxygène revêt une moindre importance. Ce qui constitue un point d'intérêt supplémentaire dans l'utilisation des ions légers en radiothérapie. En effet, comme le montre l'équation 3.9 il y a formation de peroxyde avec les rayonnements de haut *T.E.L.* en l'absence d'oxygène. De nombreux auteurs soulignent de plus l'effet direct des rayonnements de forts *T.E.L.* sur la molécule d'ADN (Hall 2000).

L'effet oxygène sera à nouveau discuté lorsque nous aborderons les mesures de survie cellulaire (voir paragraphe 4.3.3 p. 101).

Les effets biologiques indirects résultent de l'action de ces produits de la radiolyse de l'eau (comme les peroxydes RO_2H ou encore les oxydants HO_2^\bullet et H_2O_2 .) sur les molécules d'ADN.

Par exemple pour une molécule organique d'ADN qui est du type R-H, on peut observer :

- Une déshydrogénation suivie d'une hydroxylation par les radicaux OH^\bullet :



- Une déshydrogénation par les radicaux H^\bullet avec formation de composés d'addition :



- Une ouverture de doubles liaisons par l'électron aqueux suivie de la formation de composés d'addition.

On retiendra que lors d'une irradiation à faible *T.E.L.*, les lésions de l'ADN sont majoritairement produites par les effets indirects des radiations. Dans ce cas, la présence d'oxygène potentialise la production de radicaux libres et accroît les effets biologiques.

L'effet bystander

L'effet bystander peut être considéré comme un cas particulier de l'effet indirect, au niveau d'une cellule, des rayonnements ionisants. Il est maintenant admis que les radiations ionisantes n'induisent pas seulement des effets biologiques sur les cellules irradiées, mais également au niveau des cellules et des tissus environnants (Pour revue voir Snyder et al.) (Snyder 2004). L'effet bystander ou effet de proximité, induit par les radiations ionisantes est en fait défini par l'apparition d'effets biologiques au niveau des cellules qui n'ont pas été elles-mêmes irradiées. Pour les cultures de cellules *in-vitro*, l'effet bystander peut se caractériser par la diminution du coefficient d'adhérence (plating efficiency). De même, l'augmentation d'échanges chromatidiens, de transformations génétiques et de mort cellulaire programmée, sur des cellules non irradiées sont les conséquences de l'effet bystander. Deux hypothèses ont été établies pour la transmission de **l'effet de proximité**, la première est la communication inter-cellulaire via les gap-jonctions, et l'autre est la libération dans le milieu de facteurs (transmetteurs) par les cellules irradiées. Il semblerait en fait que la transmission de l'altération génétique d'une cellule à une autre dépende de la façon dont les cellules sont disposées. En effet, l'équipe de Hei T. (Zhou et Hei 1998) ont montré que lorsque les cellules, avant d'être irradiées, étaient incubées avec le lindane, un inhibiteur des communications gap-jonctions, une diminution du nombre de mutations parmi les cellules non irradiées était observée, ce qui correspond en fait à une disparition de l'effet de proximité. Mais l'effet bystander a également été observé dans des échantillons de cellules non contiguës. Cela a conduit certains chercheurs, tel Grososky A, (Grososky et al. 1999) à faire l'hypothèse d'un second mécanisme. La " molécule signal ", au lieu d'être le seul agent de l'altération, déclenche la production de radicaux libres oxygénés qui s'attaquent aux cellules voisines sans avoir à passer par une jonction cellulaire (Mikkelsen et al. 2004). Ce phénomène bystander a été établi *in-vitro* dans des systèmes de culture cellulaire mais a également été mis en évidence *in-vivo*. Cet effet *in-vivo* pourrait contribuer à l'augmentation de la mort dans les cellules tumorales (Kassis et al. 2004). Il semble cependant que cet effet soit surtout présent aux faibles doses d'irradiation. Ainsi il a été montré un effet prédominant pour des doses inférieures à 0.2 Gy (Prise, Folkard, et Michael 2003). Afin de mieux caractériser les réponses bystander certains auteurs ont développé des microfaisceaux et ont été capables d'irradier une seule cellule afin de pouvoir étudier les effets sur les cellules voisines (Shao, Folkard, Michael, et Prise 2004) et (Moretto, Michelet, Balana, Barberet, et al. 2001). Cependant, à l'heure actuelle la transduction exacte de ce signal ainsi que les mécanismes moléculaires impliqués demeurent inconnus.

3.4 Localisation des lésions

3.4.1 Lésions au niveau nucléaire

Les atteintes directes ou indirectes de l'ADN aboutissent à différents types de lésions : les cassures simple ou double brins et les altérations de bases ou de sucres (pour revue voir Rydberg 2001)

Les ruptures de brins

Ce sont les lésions les mieux connues ; elles sont fréquentes *in-vitro*. C'est par l'intermédiaire de l'effet indirect des rayonnements électromagnétiques qu'elles apparaissent principalement.

Dans la suite de ce paragraphe, la chaîne d'ADN sera modélisée comme sur la figure 3.7.

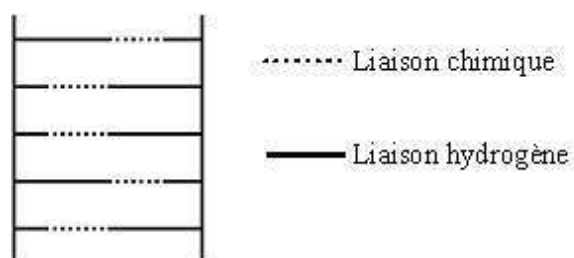


FIG. 3.7 – Représentation schématique de la double chaîne d'ADN.

La rupture simple brin peut survenir soit au niveau de la liaison phosphate-désoxyribose, soit au niveau de la liaison base-désoxyribose. Elle est préférentiellement produite par les radicaux OH^\bullet , leur nombre est par conséquent 3 à 4 fois plus élevé dans les cellules de mammifères bien oxygénées que dans les cellules hypoxiques.

Lors de cette rupture simple, la chaîne d'ADN s'ouvre comme une "fermeture éclair" car les molécules d'eau pénètrent dans cette lésion et rompent les ponts hydrogène entre les bases (cf. figure 3.8).

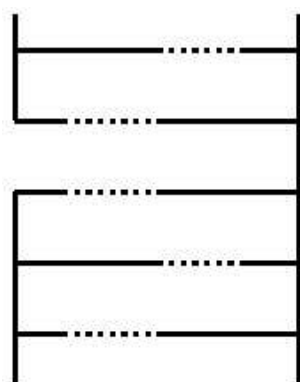


FIG. 3.8 – Représentation schématique d'une rupture simple brin de l'ADN.

La rupture double brin est la rupture des deux chaînes d'ADN en même temps, à des endroits qui sont au plus distants de trois nucléotides (cf. figure 3.9). Cette lésion peut résulter de l'action d'une seule particule ou de la combinaison de deux cassures simple brin dues à deux particules interagissant dans la même région. Il faut cependant que le temps séparant l'interaction de ces deux particules soit bref, puisque la réparation de la première lésion ne doit pas avoir eu lieu.

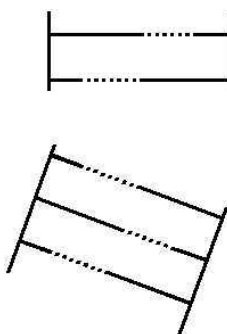


FIG. 3.9 – Représentation schématique d'une rupture double brin de l'ADN.

Les lésions les plus importantes sont en fait les cassures double brin. Il a été montré expérimentalement (Radford 1986) que le nombre de cassures double brin était inversement proportionnel au taux de survie cellulaire.

Altérations de bases

Les bases peuvent subir une modification chimique (cf. figure 3.10) ou une destruction plus ou moins complète (cf. figure 3.11). Les radicaux formés par effet indirect agissent sur les bases.

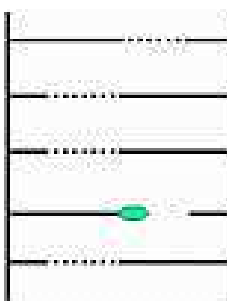


FIG. 3.10 – Représentation schématique de la lésion d'une base.

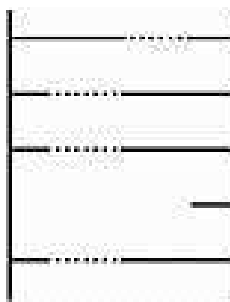


FIG. 3.11 – Représentation schématique de la perte d'une base.

Destructions des sucres

Ces altérations sont beaucoup plus mal connues et moins fréquentes que les lésions précédentes. Cependant, les sucres peuvent être oxydés puis hydrolysés (cf. figure 3.12). Ces réactions s'accompagnent de la libération de la base et éventuellement d'une rupture de la liaison phosphodiester qui lie deux nucléotides entre eux.

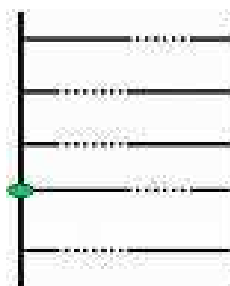


FIG. 3.12 – Représentation schématique de la lésion d'un sucre.

Pontages

Les pontages peuvent avoir lieu dans l'hélice. Ils sont de deux types, les pontages intrabrin et interbrin. Les premiers sont la liaison entre deux parties d'une même chaîne (cf. figure 3.13) alors que les seconds sont des liaisons entre les deux chaînes (cf. figure 3.14).

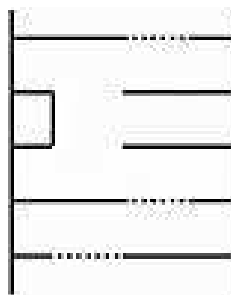


FIG. 3.13 – Représentation schématique d'un pontage intrabrin.

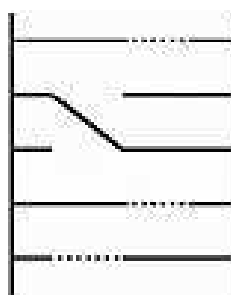


FIG. 3.14 – Représentation schématique d'un pontage interbrin.

Il peut aussi se produire des pontages entre les molécules d'ADN et des protéines (cf. figure 3.15).

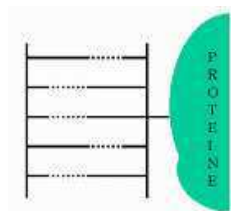


FIG. 3.15 – Représentation schématique d'un pontage ADN protéine.

A titre d'exemple, les fréquences relatives des principales lésions créées dans une cellule par une dose absorbée de un gray due à des rayonnements de faible *T.E.L.* (X ou γ) sont rassemblées dans le tableau suivant (Galle et Paulin 1992) :

D'après le tableau précédent, nous voyons que ce sont les lésions de bases et de sucres qui sont les plus nombreuses, arrivent ensuite les ruptures simple brin. De plus, pour une irradiation de un gray qui devrait produire 1000 lésions simple brin dans la cellule, 35% résulteraient de l'effet indirect précédemment décrit.

La plupart des dommages moléculaires provoqués par les rayonnements n'ont aucune conséquence, y compris ceux affectant la molécule d'ADN. En effet, la grande majorité des lésions de l'ADN, induites

TAB. 3.1 – Nature et nombre de lésions de l'ADN par cellule et par Gy. (Galle et Paulin 1992)

Nature des lésions de l'ADN	Nombre / Cellule / Gray
Rupture double brin	40
Rupture simple brin	500 - 1000
Dommages des bases	800 – 2000
Dommages des sucres	800 – 1600
Pontages ADN-ADN	30
Pontages ADN-Protéines	150

dans une cellule par une irradiation n'ont en général pas d'expression biologique. Pour que l'information génétique contenue dans le noyau soit transmise fidèlement d'une cellule à ses descendants, il est nécessaire que l'intégrité structurale de la molécule d'acide désoxyribonucléique (ADN) soit préservée. En effet, des modifications dans la séquence des nucléotides ou encore l'altération des bases ou des sucres constituant cette molécule peuvent interférer dans la transcription ou la réplication du génome. Or, lors des irradiations cellulaires, les atteintes de la molécule d'ADN sont primordiales pour les effets biologiques qu'elles entraînent, à savoir la mort cellulaire, l'incapacité de reproduction ou encore les mutations.

L'ADN est le principal constituant des chromosomes qui sont les vecteurs du patrimoine génétique d'une cellule mère à sa fille ; c'est pour cette raison que les lésions chromosomiques sont un indice des lésions d'une population cellulaire et peuvent aider à comprendre les effets d'une irradiation.

Lésion des chromosomes

Certaines lésions de l'ADN provoquées par les rayonnements ne sont pas directement visibles mais se traduisent par des anomalies au niveau des chromosomes. Avant d'étudier les différents types d'anomalies, nous préciserons la morphologie chromosomique.

Morphologie chromosomique Les chromosomes sont le support du matériel génétique, ou encore de l'hérédité. Dans la suite du chapitre, un chromosome sera représenté comme sur la figure 3.16.

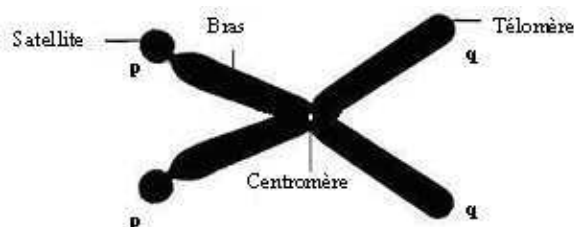


FIG. 3.16 – Représentation d'un chromosome.

Parmi les anomalies qui atteignent les chromosomes, il convient de distinguer les aberrations chromosomiques des aberrations chromatidiques.

Aberrations chromosomiques On parle d'aberrations chromosomiques si l'irradiation a eu lieu avant la phase de synthèse de l'ADN et si la lésion n'a pas été réparée avant la réplication. L'anomalie produite atteint alors les deux chromatides filles.

Plusieurs types d'aberrations chromosomiques sont observés. Parmi celles-ci, se trouvent les anomalies qui interviennent au sein d'un même chromosome et celles qui ont lieu entre deux chromosomes différents. Dans le premier cas, les aberrations sont dites intrachromosomiques et dans le deuxième interchromosomiques.

Anomalies intrachromosomiques Les délétions sont des cassures ouvertes qui donnent lieu à la formation de fragments. Il s'agit de délétions terminales lorsqu'elles surviennent à l'extrémité des chromatides et de délétions interstitielles (cf. figure 3.17) lorsque les cassures ont lieu à l'intérieur des deux bras homologues d'un chromosome. On observe alors des paires de petits fragments dépourvus de centromères.







Echanges intrachromosomiques					
					
Normal	Délétion terminale	Délétion interstitielle	Anneau centrique et fragments	Anneau acentrique	Inversion péricentrique

FIG. 3.17 – Anomalies intrachromosomiques.

Les anneaux acentriques entraînent l'apparition d'une paire de fragments de chromatides sous forme d'anneaux dépourvus de centromères.

Dans le cas des anneaux centriques, les fragments de chromatides se présentent alors sous forme d'anneaux qui comportent un centromère. Cette anomalie s'accompagne d'une paire de fragments.

Les inversions sont le résultat du retournement d'un fragment dépourvu ou non de centromère. Les inversions sont dites paracentriques si elles ne contiennent pas le centromère et péricentrique dans le cas contraire.

Anomalies interchromosomiques Les échanges entre deux chromosomes peuvent être la cause de plusieurs type d'aberrations (cf. figure 3.18). La translocation réciproque résulte de l'échange entre deux chromosomes, d'une partie d'un de leurs bras.

Les aberrations dicentriques proviennent d'un échange entre les deux parties proximales des deux chromosomes. Les morceaux incluant les centromères sont alors réunis. Ces anomalies s'accompagnent alors d'un ou plusieurs fragments.




Echanges interchromosomiques		
		
Normal	Dicentrique et fragments	Translocation réciproque

FIG. 3.18 – Anomalies interchromosomiques.

Aberrations chromatidiques Si la lésion initiale a eu lieu après la phase S, une seule chromatide fille sera atteinte. Il s'agira alors d'une aberration chromatidique. Les aberrations chromatidiques sont beaucoup moins nombreuses que les aberrations chromosomiques, mais elles peuvent se produire au sein d'un chromosome ou entre deux chromosomes distincts.

Parmi les aberrations intervenant dans un chromosome se trouvent les fragments et les lacunes. Les premières sont la cassure de la partie terminale d'un bras, alors que les secondes sont un manque à l'intérieur d'un bras. Les aberrations interchromosomiques (cf. figure 3.19) sont les échanges entre les chromatides de deux chromosomes différents.






Aberrations chromatidiques				
Echanges intrachromosomiques			Echanges interchromosomiques	
				
Normal	Lacune	Fragment	Normal	Echanges

FIG. 3.19 – Anomalies chromatidiques.

3.4.2 Lésions au niveau du cytoplasme

Il a été démontré, il y a quelques années que les rayons ionisants n'avaient pas besoin de percuter directement l'ADN du noyau cellulaire pour y provoquer des effets et que l'irradiation du cytoplasme avait bel et bien un impact sur la cellule. Jusqu'alors il était admis que seul l'atteinte du noyau et donc de l'ADN pouvait provoquer des mutations ou induire la mort cellulaire de la cellule. Or en 1992, Nagasawa H et Little J, ont irradié des cellules avec des flux réduits de particules α (Nagasawa et Little 1992) et ont démontré, en se fondant sur le taux de dommages génétiques provoqués, que la surface de la cible touchée par des atteintes génétiques était bien supérieure à celle du noyau cellulaire. Ces données ont entre autre été confirmées en 1997 par Lehnert B and Goodwin E (Lehnert et Goodwin 1997) en 1999

par l'équipe de Hei T (Wu, Randers-Pehrson, Xu, Waldren, Geard, Yu, et Hei 1999) et en 2004 par Shao C et al. (Shao, Folkard, Michael, et Prise 2004). Ces différents auteurs ont démontré, grâce à l'utilisation de microfaisceaux, que les particules α pouvaient frapper le cytoplasme d'une cellule, épargner le noyau, et néanmoins abîmer son ADN induisant ainsi des effets cytotoxiques et des mutations cellulaires. Il faut néanmoins noter que l'irradiation cytoplasmique risque beaucoup moins d'induire la mort cellulaire de la cellule que lorsque le noyau est irradié. En effet, par comparaison, une cellule touchée par 4 particules α au niveau du cytoplasme a une probabilité de survie d'environ 90% alors que si elle est atteinte au niveau du noyau, sa probabilité de survie chutera à 35%. De plus même touchée par 32 particules α au niveau cytoplasmique, une cellule garde encore 70 % de chances de survivre alors que ces chances sont inférieures à 1% si les particules atteignent directement le noyau. Hei T et al. (Wu, Randers-Pehrson, Xu, Waldren, Geard, Yu, et Hei 1999) ont également démontré que les dégâts causés par l'irradiation cytoplasmique passerait par l'intermédiaire des radicaux libres oxygénés. Cependant il n'a toujours pas été démontré comment l'information passait du cytoplasme au noyau. Les dommages causés par les radiations ionisantes au niveau du cytoplasme peuvent également se faire, indépendamment du noyau, par l'atteinte des différentes organelles qui composent celui-ci. Parmi tous les organites présents à ce niveau, la mitochondrie, qui physiologiquement permet à la cellule de respirer, joue un rôle clé dans la transduction du signal de mort. En effet, lorsque des mitochondries isolées sont irradiées il en résulte une chute du potentiel de la membrane interne des mitochondries, une ouverture des pores protéiques présents dans cette membrane et une libération de la mitochondrie vers le cytoplasme du cytochrome C (Taneja, Tjalkens, Philbert, et Rehemtulla 2001). Une fois libéré ce cytochrome c va pouvoir, en se complexant avec d'autres protéines activer la cascade de transduction du signal qui aboutira in fine à la mort de la cellule. Ainsi que ce soit par l'intermédiaire des radicaux libres ou des organelles intra-cytoplasmique, l'irradiation du cytoplasme seul peut induire la mort cellulaire.

3.4.3 Lésions au niveau membranaire

Au niveau de la membrane l'irradiation peut provoquer, par la formation des radicaux libres, d'une part la peroxydation des acides gras constitutifs de la membrane cellulaire (pour revue voir Stark 1991, Shadyro 2002) et d'autre part l'oxydation des acides aminés des protéines (Leyko 1986). Ces changements de structure vont entraîner des changements conformationnels de la membrane cellulaire (Edwards 1984). Remarque : Il a été démontré expérimentalement que, pour tuer une cellule, il fallait délivrer une dose 100 fois plus faible au noyau en irradiation "interne" par rapport à une dose délivrée à la cellule en irradiation externe. En irradiation "interne", on considère les rayonnements β de 18,4 keV émis par le tritium. La thymidine 3H s'incorpore dans l'ADN et la dose est 1000 fois moindre que lorsqu'on utilise l'eau tritiée, qui a diffusé partout, pour tuer une cellule.

3.4.4 Cas de l'effet bystander

L'effet bystander est un cas particulier, que nous avons développé précédemment (voir paragraphe 3.3.2 p. 70), où les lésions sont produites sur des cellules non irradiées. Les mécanismes de communication inter cellulaire font que, dans certaines conditions, des “ messagers ” vont être émis par les cellules irradiées et vont entraîner la mort de cellules voisines non exposées.

3.4.5 Influence de la nature du rayonnement et de la nature des lésions

Lésions caractéristiques des rayonnements à *T.E.L.* élevé

Comme nous venons de le décrire, les cassures de l'ADN mal ou non réparées peuvent être à l'origine de réarrangements chromosomiques. Certains de ces dommages semblent être caractéristiques des ions lourds. Plusieurs auteurs ont ainsi observé des échanges de chromatines sœurs après irradiation de cellules de hamster par des particules alpha, alors que ce type de dommages est rarement induit après irradiation par des rayonnements à *T.E.L.* faible (Hagamohammadi, Goodhead, et Savage 1988), (Griffin, Harvey, et Savage 1994).

Il a également été démontré que les radiations à *T.E.L.* élevé peuvent induire la formation de petits fragments d'ADN (1000 paires de bases), résultant de la distribution des coupures double brin de l'ADN (Lobrich, Cooper, et Rydberg 1996). Les radiations à *T.E.L.* élevé provoquent aussi la formation d'aberrations chromosomiques plus complexes (Boei, Vermeulen, L.H., et Natarajan 2001). Le tableau 3.2 présente une comparaison du nombre de réparation des lésions suivant le *T.E.L.* du rayonnement.

La cytotoxicité des radiations ionisantes est la résultante de la production de lésions réparables et de lésions non-réparables. De nombreuses études ont comparé les relations existant entre lésions et sensibilité aux radiations ionisantes et il apparaît clairement que le nombre de cassures double brin non ou mal réparées est parfaitement corrélé à la radiosensibilité (Olive 1998). La présence de sites de dommages multiples (MDS) ou sites locaux de dommages multiples (LMDS) est également reliée à la radiosensibilité (Ward 1985). Il s'agit en fait de plusieurs lésions de l'ADN localisées dans un site relativement petit, inférieur à 20 paires de bases. Ce regroupement de lésions induit une faible réparabilité qui se traduit par une létalité plus importante (Ward, Blakely, et Joner 1985). Ainsi, il est clairement admis que la complexité de ces sites locaux de dommages multiples dépend du *T.E.L.* du rayonnement ionisant. Le nombre et la complexité des LMDS vont influencer sur la cytotoxicité des rayonnements ionisants. Les radiations ionisantes à *T.E.L.* élevé ont la caractéristique d'induire un nombre élevé de LMDS et donc de présenter une cytotoxicité plus forte. Ceci se traduit par une efficacité biologique relative élevée. Le tableau 3.3 illustre la relation entre le *T.E.L.* et la réparation des cassures doubles brin (Rydberg, Cooper, W.R., et Chatterjee 2005) et (Rydberg, Lobrich, et Cooper 1998).

TAB. 3.2 – Comparaison des effets des radiations à faible et fort *T.E.L.* par Gy et par cellule. (Pouget et Mather 2001)

Par cellule et par Gy	<i>T.E.L.</i> faible	<i>T.E.L.</i> élevé
Nombre de particules traversant le noyau	1000	2
Dommages physiques		
Ionisations nucléaires	100 000	100 000
Ionisations de l'ADN	1500-2000	1500
Excitation de l'ADN	1500 - 2000	1500
Dommages biochimiques		
Cassure simple brin	1000	500
Cassure double brin	40	
Pontage ADN-Protéine	150	
Effets cellulaires		
Aberrations chromosomiques	0 - 3	1 - 5
Mutation complexe	10 %	45 %
Inactivation cellulaire	30 %	85 %

TAB. 3.3 – Réparation des cassures doubles brin en fonction du *T.E.L.* .

Type de radiations	<i>T.E.L.</i> (keV/ μ M)	Cdb non réparées	Cdb mal réparées
Rayon X	0,2	2	30
He	7	2	37
He	71	7	40
N	97	10	40
He	125	18	47
Fe	150	10	38

3.5 Les principaux processus de réparation

La conservation du matériel génétique demande non seulement un mécanisme extrêmement précis de copie des séquences d'ADN avant que la cellule ne se divise, mais aussi un mécanisme de réparation des nombreuses lésions accidentelles qui se produisent continuellement.

Le phénomène de réparation de l'ADN lésé après une irradiation peut être mis en évidence en étudiant par exemple le nombre de ruptures de chaînes provoquées par cette irradiation.

Dans une cellule, après une irradiation de un gray, on comptabilise environ 1500 cassures. Si cette même mesure est réalisée plusieurs heures après l'irradiation, on n'en trouve que quelques dizaines. La cellule a donc en permanence le pouvoir de réparer nombre de lésions de son ADN.

Ce mécanisme de réparation peut arriver à se saturer comme dans le cas d'irradiations à fortes doses (ou à débit de dose très élevé).

Parmi les mécanismes de réparation, nous citerons ici uniquement ceux qui peuvent assurer une réparation parfaite. C'est le cas des mécanismes d'excision-resynthèse et de la réparation post-répllicative. On note qu'il existe d'autres mécanismes, entraînant des réparations fautives comme la réparation "SOS", que nous ne discuterons pas ici.

3.5.1 Excision-resynthèse

Ce mécanisme est le plus important. Il est mis en œuvre sur des chaînes d'ADN qui ne sont pas en phase de répllication. Ce mécanisme comporte plusieurs étapes.

Tout d'abord, la partie modifiée de l'ADN est reconnue par une enzyme nommée endonucléase qui va inciser la chaîne lésée (Schéma (a) figure 3.20).

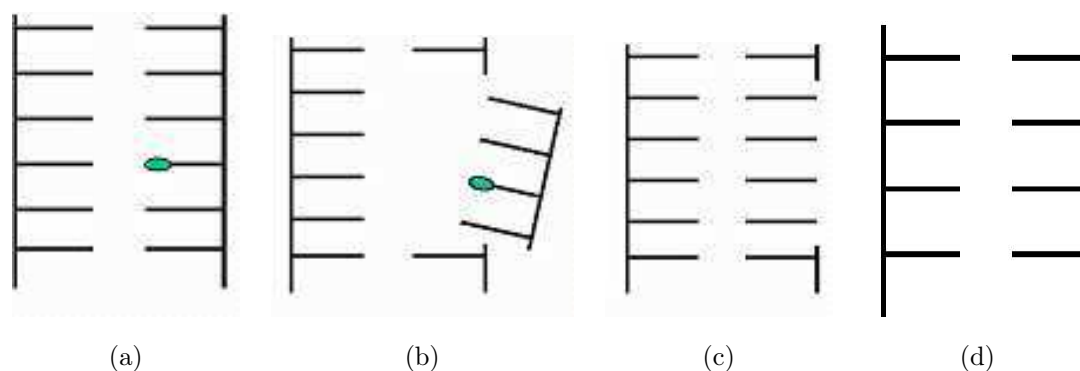


FIG. 3.20 – Mécanisme de l'excision-resynthèse.

Le segment sera ensuite excisé par une exonucléase (Schéma (b) figure 3.20). Puis, une autre enzyme appelé "ADN polymérase" va entrer en action, elle se place à l'extrémité de la chaîne d'ADN coupée et resynthétise, nucléotide après nucléotide, un nouveau fragment d'ADN en utilisant comme modèle le brin intact (Schéma (c) figure 3.20). La dernière enzyme à intervenir est une ligase, elle va relier le

segment nouvellement constitué à la double chaîne (Schéma (d) figure 3.20) et terminer ainsi le processus de réparation.

Dans le cas des lésions simple brin et de la majorité des dommages des bases, la réparation est systématiquement fidèle puisque la lésion est réparée dans son intégralité. Dans le cas de lésions double brin ou lorsque le dommage est important, la réparation peut ne pas être complète et être à l'origine de lésions définitives.

3.5.2 Recombinaison post-répllicative

Ce mécanisme est aussi connu sous le nom de réparation par recombinaison. Tout comme les cellules quiescentes sont capables de réparer leurs lésions par excision-resynthèse, les cellules en phase de réplication (phase S du cycle cellulaire) ont la possibilité d'utiliser un autre mécanisme.

Dans ce processus, l'ADN polymérase ne reconnaît pas la lésion sur le brin fille dans la fourche de réplication et ne peut donc pas répliquer le fragment lésé. Il s'en suit donc une brèche (schéma 1 figure 3.21) ; la réplication étant reprise après la lésion.

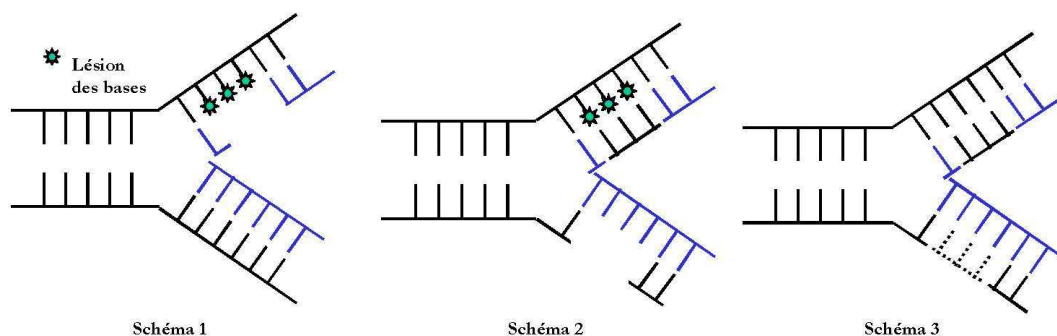


FIG. 3.21 – Recombinaison post-répllicative.

Cette brèche est alors comblée par le transfert du segment d'ADN provenant de la chaîne mère intacte de l'autre brin. Ceci entraîne donc une lacune dans la chaîne mère (schéma n° 2 figure 3.21).

Cette lacune est alors remplie en prenant comme modèle la chaîne fille intacte nouvellement formée et la lésion résiduelle de l'autre chaîne mère est réparée par excision resynthèse (schéma 3 figure 3.21). Un processus similaire, quoique plus complexe, pourrait être à l'origine de la réparation des lésions double brin.

3.6 La mort cellulaire

La chronologie des événements intervenant en réponse aux radiations ionisantes est exposée dans le schéma suivant.

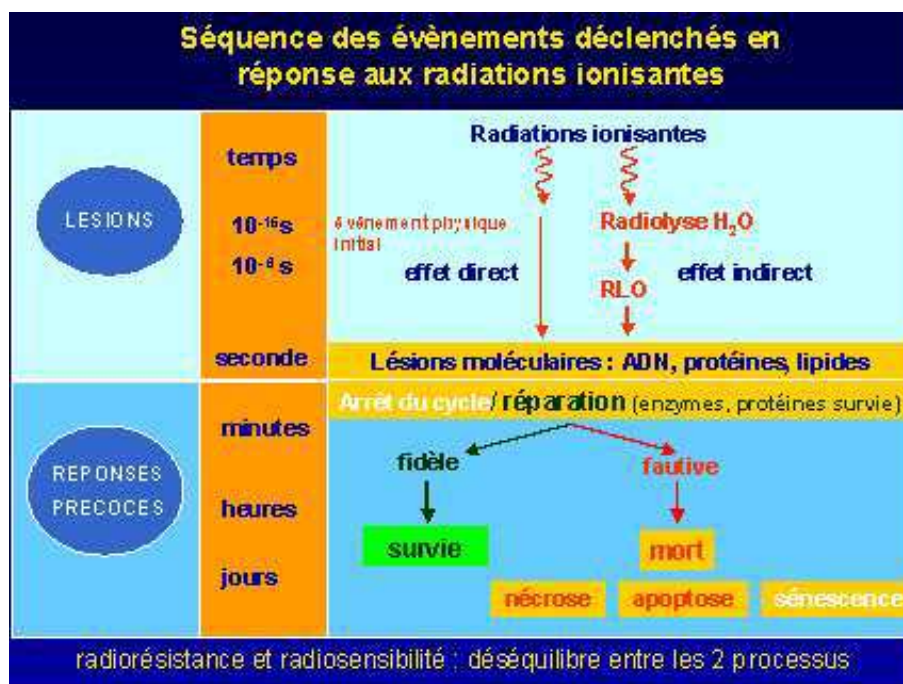


FIG. 3.22 – Chronologie des événements intervenant en réponse aux radiations ionisantes.

Les lésions biologiques des radiations ionisantes sont la conséquence d'une chaîne de réactions entraînées par l'absorption des photons. Il existe une grande disproportion entre le nombre d'excitations-ionisations induites par les radiations et l'effet biologique observé. Pour prendre un exemple, une dose de 10 Gray en photon entraîne environ $2 \cdot 10^{15}$ ionisations par gramme de tissus ce qui signifie que seulement 2 molécules d'eau sur 10^7 sont ionisées. Pourtant l'effet final est la mort cellulaire. On note que les lésions entraînant la mort cellulaire peuvent survenir dans différentes régions et notamment, au niveau du noyau de la cellule, dans les membranes ou encore au niveau des mitochondries, dans le cytoplasme.

3.6.1 Aberrations chromosomiques et mort cellulaires

Parmi l'ensemble des mécanismes pouvant mener à la mort cellulaire, précédemment décrits, il existe de nombreuses preuves démontrant que les sites sensibles se trouvent dans le noyau cellulaire. L'étude réalisée par Munro (Munro 1970) démontre que lorsque l'on irradie le cytoplasme de fibroblastes de hamster à des doses de 250 Gy avec des particules alpha issues de la désintégration du polonium, il n'y a pas d'effet sur la prolifération cellulaire. Au contraire la pénétration de quelques particules alpha dans le noyau va induire la mort de la cellule. Il semble ainsi évident que l'ADN chromosomique est la cible principale de l'action clonogénique des rayonnements ionisants.

D'autres études ont été réalisées et mènent aux mêmes conclusions.

Par exemple, l'irradiation sélective de l'ADN par incorporation de thymidine tritiée induit la mort cellulaire. Il a été démontré, de plus, que la taille des chromosomes était clairement corrélée à la radiosensibilité.

sibilité (voir E.J. HALL p38) (Hall 2000). De nombreux auteurs ont également rapporté qu'il existe une relation entre la mort cellulaire et les aberrations chromosomiques, notamment les résultats de l'étude publiée par Cornforth et Bedford (Bedford et Cornforth 1987). Ces auteurs présentent une relation parfaitement linéaire, en coordonnées logarithmiques, entre la fraction de cellules survivantes et le nombre moyen d'aberrations chromosomiques de type échanges asymétriques (dicentriques et anneaux) par cellule. A l'opposé ils montrent également une excellente corrélation entre la fraction de cellules survivantes et la fraction de cellules sans aberration visible.

On note qu'il existe d'autres représentations de l'effet des rayonnements sur une population cellulaire. De nombreux auteurs ont notamment étudié l'induction de micro-noyaux par les rayonnements ionisants (Courdi, Mari, Hérault, et Chauvel 1995).

3.6.2 Différents types de mort cellulaires

L'orientation de la cellule vers un type de mort dépend de la dose délivrée, du nombre de lésions non ou mal réparées et de sa position dans le cycle cellulaire. En effet avant la première mitose les cellules s'orienteront préférentiellement vers une mort programmée par apoptose alors qu'après la première division elles auront le choix entre la nécrose, la sénescence et l'apoptose (Brown et Wouters 2001).

Les courbes de survie permettent d'apprécier la globalité des morts cellulaires (nécrose, sénescence et apoptose). Elles sont la représentation graphique de la relation entre le taux de survie des cellules clonogènes et la dose délivrée.

La nécrose

La nécrose est considérée comme une mort cellulaire "désordonnée". En effet au cours de la nécrose, les cellules vont gonfler au point que cela va entraîner la lyse de leur membrane plasmique. Cette véritable explosion cellulaire conduit au relargage dans le milieu environnant du contenu cytoplasmique. Les organelles vont aussi avoir tendance à gonfler. L'ADN nucléaire va être dégradé de manière "aléatoire" (Bicknell et Cohen 1995) par des endonucléases activées, notamment par des sérines protéases. En raison du relargage des interleukines dans l'environnement, la nécrose est très souvent à l'origine de réactions inflammatoires.

La mort cellulaire programmée ou apoptose

L'apoptose ou mort cellulaire programmée est un processus inductible permettant aux cellules de mettre à exécution un programme intrinsèque de mort. Elle a été décrite pour la première fois en 1972 (Kerr et al. 1972). Tout d'abord les cellules en apoptose vont s'isoler des autres cellules par perte des contacts. L'un des points morphologiques caractéristiques de l'apoptose est l'importante condensation à la fois du noyau et du cytoplasme ce qui induit une diminution significative du volume cellulaire. Différents événements métaboliques, comme l'atteinte des fonctions mitochondriales et l'activation de cascade de

protéines (cystéines protéases) sont impliqués dans la transduction de ce signal de mort. Ensuite, le noyau se condense, puis la chromatine est clivée en fragments réguliers. La membrane plasmique va bourgeonner et conduire à la formation de corps apoptotiques renfermant une partie du cytoplasme de la cellule. L'un des points majeurs de l'apoptose est que l'intégrité de la membrane plasmique n'est jamais altérée au cours du processus, ce qui permet d'éviter tout déversement du contenu cellulaire et ainsi prévenir tout dommage infligé aux tissus alentours et toutes réactions inflammatoires.

La sénescence

La sénescence est en fait la mort cellulaire par arrêt de la croissance. Après une irradiation, les cellules qui auront mal ou pas réparé les lésions vont perdre leur capacité à se diviser et vont former des cellules géantes et/ou polynucléées. Les cellules peuvent perdre leur capacité de division durant la phase G1 qui suit l'irradiation ou après plusieurs divisions cellulaires.

3.7 Conclusions

Après la description, dans les chapitres 1 et 2, des événements physiques survenant lors de l'interaction rayonnement-matière, nous nous sommes attachés à comprendre, dans ce chapitre, quels étaient les principaux mécanismes d'actions des rayonnements ionisants sur les cellules.

Il a été clairement démontré que l'ADN est la cible privilégiée de l'action des rayonnements. On note que si l'on considère la mort cellulaire, les études menées sur microfaisceaux ont démontré que le noyau contenant l'ADN constituait la structure sensible de la cellule. Par contre il est important de noter que si l'on considère les mutations génétiques, le noyau n'est plus la seule structure sensible puisque l'irradiation du cytoplasme seul entraîne de nombreuses mutations génétiques.

Dans cette complexité de réponse des systèmes biologiques vis à vis des rayonnements ionisants, notre étude s'est portée sur l'étude macroscopique de la survie cellulaire en fonction des doses de rayonnement. Nous allons décrire dans le chapitre suivant en quoi consistent ces courbes de survie cellulaire et en quoi elles peuvent être importantes en radiobiologie, en radiothérapie et en hadronthérapie.

Chapitre 4

Mesures de la mort cellulaire

4.1 Introduction

La survie cellulaire ou son contraire la mort cellulaire, suite à une irradiation, peuvent donner lieu à de multiples interprétations en fonction du contexte. Une définition précise est essentielle. En effet, pour des cellules différenciées et qui ne prolifèrent pas, la mort cellulaire peut se définir comme la perte de la fonction cellulaire. Pour les cellules proliférantes, c'est la perte de la capacité de proliférer indéfiniment qui sera associée à la mort cellulaire. De plus, si des doses considérables sont nécessaires pour entraîner la mort d'une cellule immédiatement après une irradiation, pour des doses plus faibles, la cellule peut continuer à vivre pendant un temps plus ou moins long. Pour des lignées proliférantes, il n'est pas rare en effet de constater que certaines cellules irradiées vont réussir à passer quelques divisions mais ne seront plus capables de se diviser indéfiniment. L'étude quantitative de la mortalité cellulaire peut être réalisée *in-vitro* ou *in-vivo*. On définit les courbes de survie cellulaire comme la représentation graphique de la relation entre le taux de survie des cellules clonogènes, c'est à dire qui ont gardé la capacité de proliférer indéfiniment, et la dose délivrée. Leur forme peut varier en fonction de la dose d'irradiation et de la nature du rayonnement utilisé. Dans ce chapitre, nous nous attacherons à voir comment ce taux de survie des cellules est déterminé expérimentalement. Nous décrirons ensuite différents types de courbes de survie et leur modélisation mathématique. Nous nous intéresserons plus particulièrement aux courbes de survie obtenues avec des particules de haut *T.E.L.* .

4.2 Les courbes de survie cellulaire

Après une dose de rayonnement de plusieurs centaines voir milliers de Grays, les fonctions cellulaires s'arrêtent et la cellule meurt très rapidement, on parle de mort cellulaire immédiate. Il s'agit d'un phénomène très rare. Seules deux types cellulaires font exception et meurent pour des doses moindres (de l'ordre du Gray) :

- Les lymphocytes,
- Les ovocytes.

Il s'agit d'une mort très rapide par nécrose avec arrêt des fonctions cellulaires et cytolysse. Dans le chapitre précédent (voir paragraphe 3.4 p. 71) nous avons présenté les différents mécanismes qui peuvent être mis en jeu dans les processus conduisant à la mort cellulaire. Pour des doses de rayonnement beaucoup plus faibles, quelques grays, délivrées à des cellules proliférantes, les effets biologiques de l'irradiation peuvent n'être observés que bien après l'exposition. On parlera alors de mort cellulaire différée. Dans le cas de l'irradiation de cultures de cellules *in-vitro*, on observe notamment qu'une certaine partie d'entre elles perdent leur capacité à se diviser (sénescence), d'autres rentrent dans un mécanisme d'apoptose (mort programmée et régulée) et d'autres se nécrosent.

La réalisation des courbes de survie permet de prendre en compte la globalité de ces mécanismes conduisant à la mort cellulaire. Nous rappelons que **l'on définit une cellule survivante à l'irradiation comme une cellule qui a gardé sa capacité de se diviser indéfiniment**. Elle est donc capable de donner naissance à une colonie de cellules, qui par convention doit contenir au moins cinquante cellules au bout de 8 divisions cellulaires. Les courbes de survie, qui sont la représentation graphique de la relation entre le taux de survie des cellules clonogènes, et la dose délivrée, permettent également de caractériser les lignées cellulaires vis-à-vis des rayonnements ionisants. Ainsi, la détermination de la survie à 2 Gy, notée SF2¹, permet d'apprécier la radiosensibilité cellulaire. Les courbes de survie ont donné lieu, de plus, à différents modèles statistiques que nous présenterons par la suite. Les paramètres de ces modèles permettent d'estimer d'autres caractéristiques cellulaires comme les capacités de réparation par exemple.

4.2.1 Réalisation des courbes de survie cellulaires *in-vitro*.

La capacité des cellules à se multiplier et à donner des colonies, qui peuvent facilement être visualisées à l'œil nu, est la preuve que leur fonction de reproduction est intacte donc que ces cellules sont vivantes. La perte de cette capacité à se reproduire en fonction de la dose d'irradiation est décrite par la courbe de survie cellulaire.

Les courbes de survie peuvent être réalisées *in-vitro* à partir de cultures de cellule mais également *in-vivo* à partir de biopsies. En pratique les cellules sontensemencées dans des boîtes, recouvertes d'un milieu de culture adéquate et placées à 37 ° C durant plusieurs jours. Dans ces conditions les cellules vont adhérer à la surface de la boîte, grandir et se diviser.

Pour établir une courbe de survie cellulaire il faut maîtriser parfaitement le nombre de cellulesensemencées. Les cellules sont tout d'abord détachées de leur support initial (sur lequel elles sont conservées au laboratoire) grâce à la trypsine et mises en suspension. Le nombre de cellules par unité de volume (souvent le ml) est ensuite défini. Un nombre de cellules, préalablement déterminé, est ensuiteensemencé dans les boîtes de culture qui seront soit des boîtes témoins (sans irradiation), soit des boîtes irradiées.

¹survival fraction at 2 Gy

Après l'expérience, les cellules seront placées à l'incubation durant 1 à 2 semaines, ce qui correspond à 8 divisions cellulaires. Pendant cette période chaque cellule va se diviser et donner une colonie qui sera aisément visible à l'œil nu après fixation et coloration. Toutes les cellules d'une colonie seront en fait les descendantes d'une seule cellule mère ayant survécu à l'irradiation. Pour simplifier, considérons un exemple avec 100 cellules témoins. Sur ces 100 cellulesensemencées, le nombre de colonies formées se situe souvent entre 50 et 90 sur les boîtes témoins. Idéalement ce nombre devrait être égal à 100 mais c'est très rarement le cas. Les causes en sont diverses, erreurs et incertitudes du comptages, traumatisme de la trypsination et de la manipulation ou encore changement du milieu de culture. Le terme de plating efficiency indique ainsi le pourcentage de cellules qui ont adhéré au support et qui sont capables de donner des colonies. Si le nombre de colonies est de 70 après un ensemencement de 100 cellules alors le coefficient de collage, encore appelé "plating efficiency", sera de 70%. Il est important de noter que le coefficient d'adhérence² va parfois largement varier en fonction du nombre de cellulesensemencées. C'est ce que l'on appelle l'effet feeder.

En parallèle des boîtes témoins il y a bien évidemment des boîtes irradiées. Pour une irradiation de 8 Gy par exemple, 2000 cellules sontensemencées dans des boîtes de cultures puis irradiées avec des photons. Les cellules seront ensuite incubées 1 à 2 semaines avant d'être fixées et colorées. Trois cas pourront être observés comme le montre la figure 4.1 :

- Des cellules seules, collées au support, mais qui ne se seront pas divisées. Dans certains cas même ces cellules pourront présenter une détérioration du noyau et des signes caractéristiques de l'apoptose.
- Des cellules qui ont subi une ou deux divisions mais qui ont ensuite arrêté leur croissance formant ainsi une minuscule colonie abortive.
- Des cellules qui ont été capables de former une colonie de plus de 50 clones. Ces cellules sont dites survivantes car elles ont gardé leur capacité à se reproduire.

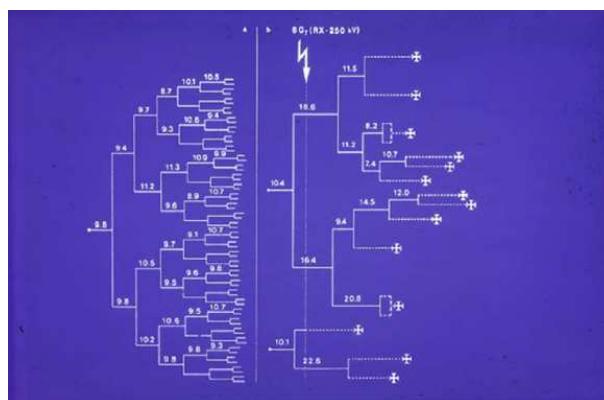


FIG. 4.1 – Effet d'une irradiation sur la clonogénicité des cellules.

Après ensemencement à 2000 cellules et irradiation à 8 Gy, les colonies sont comptées. En raison

²plating efficiency

du plating efficiency de 70%, et si les cellules n'avaient pas été irradiées, 1400 colonies auraient dû être comptées. En fait seules 32 colonies ont été dénombrées. La fraction survivante pour cette dose est donc de : $32 / (2000 \times 0,7) = 0,023 = 2,3\%$

Et plus généralement la fraction survivante est donnée par la formule suivante :

$$\text{Fraction survivante} = \frac{\text{Nombre de colonies comptées}}{(\text{Nombre de cellules ensemencées}) \times (\text{plating efficiency}) \times 100} \quad (4.1)$$

Pour obtenir une courbe de survie cellulaire de nombreuses doses d'irradiation doivent être réalisées. Le nombre de cellules ensemencées est bien entendu ajusté pour chaque dose afin de compter un nombre respectable de colonies. En effet, si trop peu de colonies sont comptées il n'y aura pas de signification statistique et s'il y a un nombre trop important de colonies le comptage sera impossible à cause des recouvrements entre colonies.

Notons en dernier point que les résultats obtenus par la réalisation de courbes de survie cellulaire ne permettent pas de distinguer de quelle façon la mort cellulaire est survenue, à savoir si les cellules meurent par nécrose, apoptose ou sénescence (mort mitotique). Cependant elles donnent un grand nombre d'informations sur la radiosensibilité des cellules.

4.3 Principaux types de courbes de survie observées

Seule une étude expérimentale permet de réaliser la courbe de survie d'une lignée cellulaire, c'est à dire la relation décroissante qui lie le taux de survie (S) à la dose (D). Pour comparer les courbes de survie obtenues, il est commode de les modéliser par une fonction mathématique.

Les courbes de survie diffèrent selon le système biologique étudié, tant en ce qui concerne leur forme que la valeur du taux de survie. Cependant, il est possible de distinguer plusieurs types de courbes caractéristiques. Une relation exponentielle entre le taux de survie (S) et la dose absorbée (D) est observée pour les virus et les bactéries. Pour les cellules de mammifères, les courbes de survie ont une forme plus complexe, on parle alors de courbes de survie avec épaulement.

4.3.1 Courbe de survie représentée par une exponentielle

La relation qui relie le taux de survie S à la dose D est dans ce cas une relation exponentielle donnée par l'équation :

$$S = e^{-\alpha D} \quad (4.2)$$

Il est plus courant d'écrire cette relation sous la forme :

$$S = e^{-D/D_0} \quad (4.3)$$

en posant :

$$D_0 = 1/\alpha \quad (4.4)$$

La dose létale moyenne D_0 est la valeur de la dose pour laquelle le taux de survie est égal à $e^{-1} \approx 37\%$. Ce paramètre est aussi parfois nommé D_{37} .

Il peut être utile de calculer le logarithme de la survie qui s'écrit :

$$\text{Log}(S) = -\alpha D = -\frac{D}{D_0} \quad (4.5)$$

La représentation de cette courbe de survie en coordonnées semi-logarithmiques est donc une droite de pente $-\alpha$ ou $-1/D_0$ (cf. figure 4.2). Selon l'espèce cellulaire, la valeur de D_0 présente une large variation, elle dépend aussi du *T.E.L.* du rayonnement.

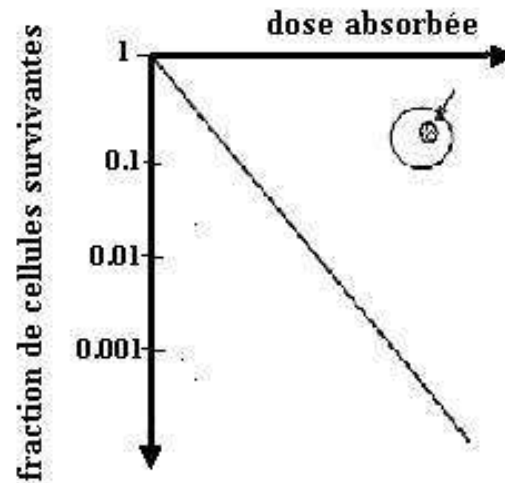


FIG. 4.2 – Courbe de survie de type exponentielle en coordonnées semi-logarithmique.

L'interprétation de cette courbe peut se faire au moyen d'un modèle balistique simple. Ce modèle, encore appelé modèle de la cible, a été introduit par Dessauer en 1922 puis développé par Hutchinson (Hutchinson et Pollard 1961).

Dans ce modèle, et du point de vue des rayonnements ionisants, la cellule peut être considérée comme un ensemble de sous unités identiques assurant une fonction biologique.

Plus simplement on peut aussi estimer qu'il n'y a qu'une seule sous unité dans la cellule et que cette sous unité doit être intacte pour assurer la fonction biologique de la cellule (1 cible à 1 coup). Dans ce dernier cas, un seul événement létal peut "tuer" la cellule si la sous unité est touchée. Ces événements létaux sont distribués aléatoirement sur les cellules d'une population. Lorsque la dose augmente, le nombre total de ces événements létaux croît proportionnellement. On définit p comme le nombre moyen d'événements

létaux par cellule, il est défini comme le rapport entre le nombre total des événements létaux produits dans la population cellulaire, et l'effectif total de la population.

D'après la loi statistique de Poisson, e^{-p} est la proportion de cellules dans lesquelles il n'y a eu aucun événement létaux ; cette proportion est donc représentative du taux de survie S des cellules.

En rapprochant les expressions :

$$S = e^{-p} \quad (4.6)$$

et

$$S = e^{-D/D_0} \quad (4.7)$$

on voit que $1/D_0$ est le coefficient de proportionnalité entre p et la dose D ; si D est égale à D_0 , le nombre moyen d'événements létaux par cellule est égal à 1.

Biologiquement, ceci signifie que la mort cellulaire est un phénomène de tout ou rien. La cellule a donc deux possibilités :

- celle de survivre si elle est intacte
- celle de mourir si elle est touchée.

4.3.2 Courbe de survie présentant un épaulement

Pour des cellules de mammifères, les courbes de survie présentent en général une forme plus complexe. La première courbe de survie cellulaire pour une lignée de mammifère, représentée sur la figure 4.3, a été établie par Puck et Markus en 1956 (Puck 1956).

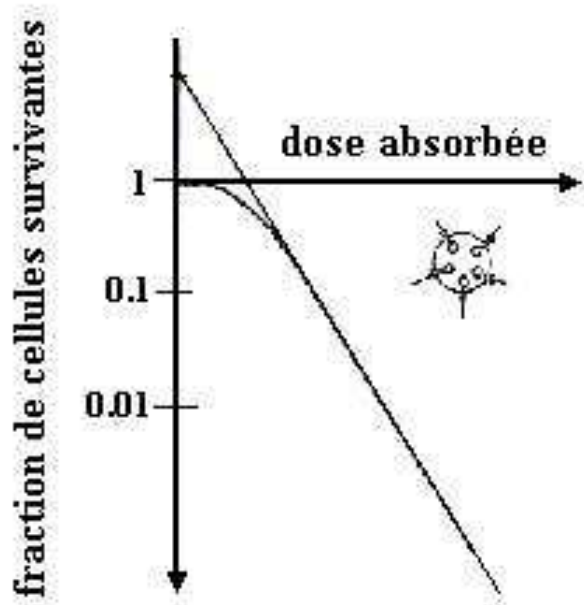


FIG. 4.3 – Courbe de survie présentant un épaulement.

Cette courbe montre notamment :

- Une forme purement exponentielle aux faibles doses,
- Un épaulement étroit,
- Un retour à une relation purement exponentielle aux “ fortes ” doses.

Pour d’autres lignées de mammifères, les courbes de survies s’incurvent continuellement aux fortes doses.

Si l’analyse qualitative de ces courbes de survie est aisée, trouver un modèle biophysique, représentant les événements biologiques est beaucoup plus complexe. Un grand nombre de modèles ont été proposés à ce jour pour expliquer l’épaulement des courbes de survie. Tous ces modèles sont capables de décrire les points expérimentaux représentant l’épaulement d’une courbe de survie. Cependant, il n’a jamais été possible de choisir parmi ces modèles celui qui représente le mieux les données biologiques. En effet, les données expérimentales ne sont pas suffisamment précises et les modélisations pas suffisamment différentes. On note également que la réalisation des courbes de survie aux doses élevées est relativement difficile.

La figure 4.3 indique que plusieurs “impacts” sont nécessaires avant la perte des fonctions biologiques. Le modèle des cibles multiples est caractéristique des courbes de survie qui redeviennent exponentielles aux fortes doses.

Dans un autre modèle, au contraire, la courbe de survie s’incurve constamment aux fortes doses : il s’agit du modèle linéaire quadratique. Bien d’autres modèles ont été développés, comme les modèles basés sur la réparation, mais nous ne citerons ici que les modèles les plus utilisés.

Modèle de n cibles à un coup

L'hypothèse de départ pour ce modèle consiste à dire qu'une cellule contient n cibles identiques. L'inactivation d'une cible correspond à un événement sublétal et l'accumulation des événements sublétaux provoque la mort de la cellule, qui interviendra lorsque les n cibles seront atteintes. Le taux de survie correspondant est donné par :

$$S = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^n \quad (4.8)$$

Cette relation s'appuie sur deux points statistiques ;

- les n cibles sont atteintes aléatoirement,
- la probabilité de non atteinte d'une cible est une fonction exponentielle de la dose (e^{-D/D_0}).

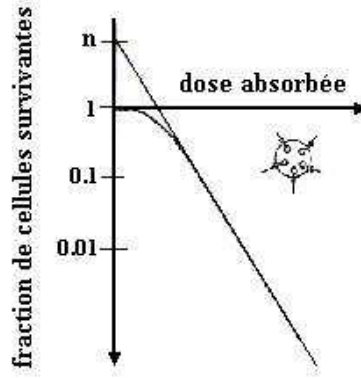


FIG. 4.4 – Courbes de survie suivant le modèle de n cibles à 1 coup.

D'après cette expression, pour une dose D_0 , en moyenne une cible est atteinte. De plus, la probabilité de toucher une cible est :

$$P(1 \text{ cible}) = 1 - e^{-D/D_0} \quad (4.9)$$

Il vient donc que la probabilité d'atteinte de n cibles de la même cellule est :

$$P(n \text{ cible}) = (1 - e^{-D/D_0})^n \quad (4.10)$$

Cette expression représente la probabilité de la mort de la cellule. La probabilité de survie est par conséquent donnée par la formule :

$$S = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^n \quad (4.11)$$

De plus, lorsque $D \rightarrow \infty$, on a $S \rightarrow n \cdot e^{-D/D_0}$. Cette dernière expression est l'équation de l'exponentielle vers laquelle tend la courbe de survie ; sa pente est égale à $-1/D_0$ et elle coupe l'axe des ordonnées au point d'ordonnée n. Le nombre n représente le nombre de cibles sublétales.

Modèle quadratique (ou modèle d'une cible à deux coups)

Dans ce modèle, il est nécessaire que deux événements sublétaux indépendants touchent la même cible pour que la cellule subisse un événement létal. Dans ce cas là, le taux de survie est fonction du carré de la dose. Il sera donc exprimé par :

$$S = e^{-\beta D^2} \quad (4.12)$$

β représente la probabilité de production d'un événement sublétal.

La courbe de survie (cf. figure 4.5) présente une tangente initiale de pente nulle (ce qui traduit une mortalité cellulaire nulle aux faibles doses) et s'incurve progressivement avec la dose.

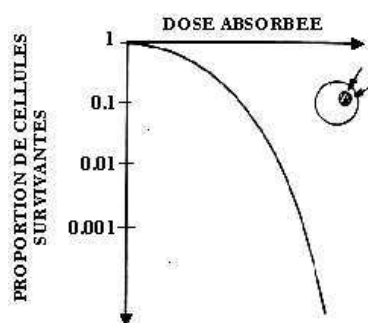


FIG. 4.5 – Le modèle quadratique.

Les deux modèles précédents représentent de façon satisfaisante la forme de la courbe de survie cellulaire pour des doses élevées mais ils sous-estiment l'effet des faibles doses. En effet, la pente à l'origine est dans les deux cas une pente nulle, ce qui revient à dire que la mortalité cellulaire est nulle pour les faibles doses ; ces modèles ne décrivent pas correctement les résultats expérimentaux et un meilleur accord est obtenu avec le modèle à deux composantes décrit dans le paragraphe suivant.

Le modèle linéaire quadratique

Ce modèle est basé sur le fait que la cellule peut être tuée de deux façons différentes, suivant la nature de la cible atteinte. Soit elle meurt par l'action d'un seul événement létal qui sera représenté par la composante linéaire de la courbe de survie, soit par l'addition de deux événements sublétaux qui correspondent à la portion quadratique de la courbe (cf. figure 4.6).

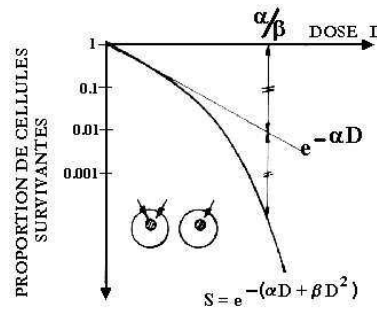


FIG. 4.6 – Le modèle linéaire quadratique.

Le taux de survie est donné par :

$$S = e^{-(\alpha D + \beta D^2)} \quad (4.13)$$

L'expression $S = e^{-(\alpha D + \beta D^2)}$ est nommée relation linéaire quadratique. Les coefficients α et β se rapportent respectivement aux lésions létales et aux lésions sublétales. Le rapport (α/β) donne une indication sur leur importance relative dans la mortalité cellulaire. Ce rapport qui s'exprime en Gy, est très élevé lorsque la courbe de survie est quasi exponentielle et très faible lorsque l'épaule est importante. Le rapport α/β est la valeur de la dose pour laquelle les effets des termes linéaires et quadratiques sont égaux.

La valeur de ce rapport dépend du type de cellules, il est important pour des cellules responsables de réactions précoces et il est faible pour celles responsables de lésions tardives. Les cellules radiorésistantes ont, en général, un rapport α/β petit, leur courbe de survie présente un large épaule. Par contre, les cellules radiosensibles ont un rapport α/β grand et leur courbe de survie présente un faible épaule.

Le terme $e^{-\alpha D}$ fait apparaître à l'origine de la courbe de survie une pente négative dont la valeur est $-\alpha$. Cette courbe s'incurve progressivement avec la dose. Dans cette partie initiale, la létalité cellulaire est presque uniquement due à des événements létaux directs. Cependant, plus la dose augmente, plus la contribution des événements sublétaux est importante. On remarque qu'aux doses élevées, la courbe de survie s'incurve continuellement (prédominance du terme en $\beta.D^2$).

Le modèle des cibles multiples

Avec ce modèle à deux composantes, les courbes de survie sont représentées par la figure 4.7

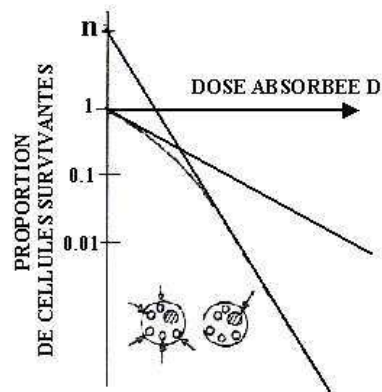


FIG. 4.7 – Modèle d'une cible à 1 coup et de n cibles à 1 coup.

On peut ainsi distinguer :

- Aux faibles doses, une pente initiale D_1 en coordonnées semi log. Cette relation exponentielle résulte d'un seul évènement potentiellement létal. En d'autre terme il existe dans la cellule une cible qui va entraîner la mort si elle est touchée.
- Aux fortes doses, une pente finale D_0 en coordonnées semi log, qui représente les évènements sublétaux. En d'autres termes, si n cibles sont touchées, la cellule meurt.
- Un paramètre supplémentaire est ajouté, n, pour prendre en compte la largeur de l'épaulement.

Modèles basés sur la réparation cellulaire

Dans ces modèles, l'irradiation cellulaire entraîne des évènements qui peuvent être létaux mais qui ont la possibilité de se réparer rapidement. Cependant, lorsque la dose augmente, la capacité de réparation diminue.

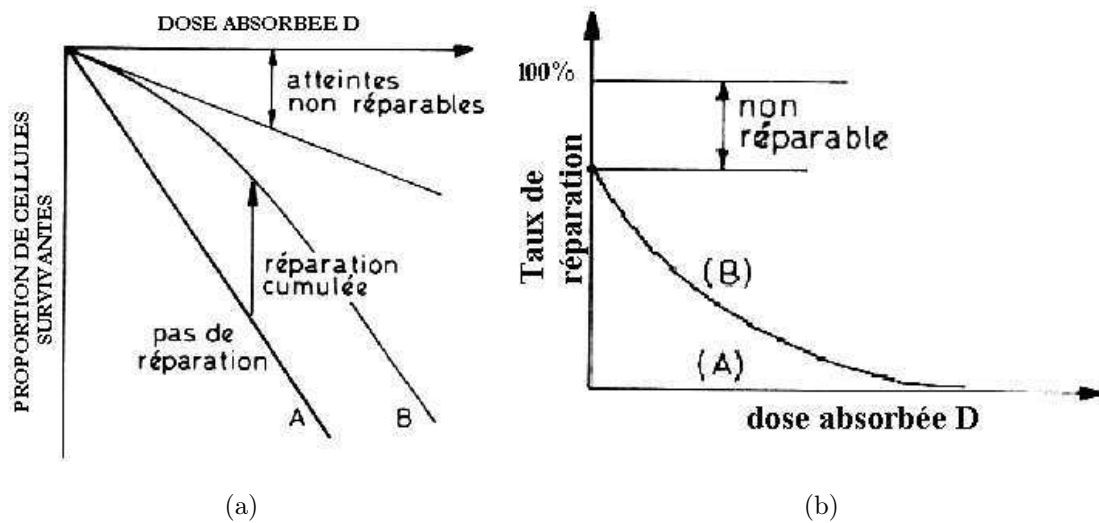


FIG. 4.8 – Interprétation de la courbe de survie par la réparation cellulaire : (a) courbe de survie, (b) taux de réparation en fonction de la dose absorbée.

La courbe A de la figure 4.8 (a) représente le taux de survie auquel conduisent les atteintes cellulaires en l'absence de réparation. La courbe B décrit le taux de survie observé du fait de la réparation.

La pente à l'origine est expliquée par les lésions d'emblée irréparables et l'épaulement par une baisse de la capacité de réparation ; cette dernière étant due à la saturation du système enzymatique. Ainsi, le taux de mortalité cellulaire par unité de dose augmente avec la dose. Lorsque les systèmes de réparation sont saturés, les événements sont presque tous létaux, la courbe de survie devient alors exponentielle.

4.3.3 Les facteurs d'influence sur la survie cellulaire

On appelle "facteur d'influence" tout facteur qui modifie l'effet radiobiologique de la dose délivrée. Ces facteurs sont souvent appelés "Dose Modifying Factor" et sont notés $D.M.F.$. Il existe de nombreux $D.M.F.$ qui sont classiquement utilisés pour potentialiser l'effet d'un traitement par radiothérapie. On cite notamment :

- certaines substances chimiques,
- l'oxygène dissout dans le milieu ambiant,
- le fractionnement et l'étalement de la dose délivrée,
- la qualité du rayonnement utilisé,
- la position sur le cycle cellulaire.

Cas du fractionnement et de l'étalement de la dose

Dès 1959, Elkind montre qu'une irradiation réalisée en deux fractions séparées par un intervalle de temps conduit à un taux de létalité inférieur à celui obtenu quand la dose totale est délivrée en une seule fois. En quelques heures, la réparation des lésions sublétales est à peu près complète (période d'1,5

heures). On observe sur les cellules survivantes, la courbe de survie qui “repart” avec un épaulement (on suppose qu’il n’y a pas de multiplication cellulaire dans l’intervalle sans irradiation) :

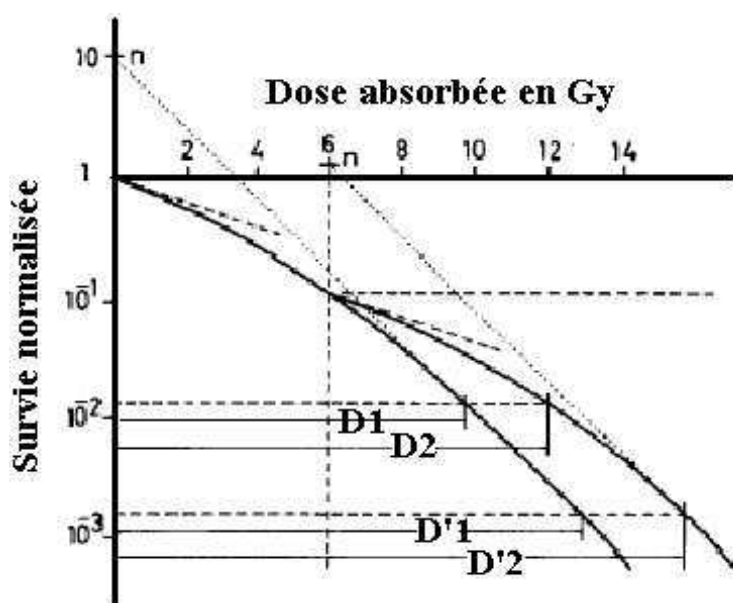


FIG. 4.9 – Effet du fractionnement de la dose sur la survie cellulaire.

Pour un taux de survie donné, S_0 , on peut donc définir une dose additionnelle, D_a , liée au phénomène de fractionnement. D_a dépend de l’épaulement. Ce phénomène, qui peut être répété dans le temps, est très utilisé en radiothérapie par exemple. Dans ce cas, on est amené à augmenter la dose totale délivrée pour aboutir au même effet. Plus la dose par séance est faible, plus le nombre de séances est grand ainsi que la dose totale à délivrer pour obtenir le même effet : on parle de courbe iso-effet.

Influence du cycle cellulaire

L’exposition des cellules aux radiations ionisantes induit un arrêt de la progression du cycle cellulaire en phases G1 et G2 (Hartwell et Weinert 1989). Ces arrêts vont en fait permettre à la cellule d’activer les mécanismes de la réparation. Il est maintenant acquis que deux protéines kinases activées par les dommages de l’ADN, la protéine ATM (Ataxia Telangectasia Mutated) et le complexe protéique DNA-PK (DNA-dependent protein kinase) sont les principaux acteurs des arrêts de la progression cellulaire (Rathmell, Hurt, Byrd, et Chu 1997) et (Szumiel 1998). Ces enzymes permettraient l’activation de la protéine suppresseur de tumeur p53. La fonction principale de l’arrêt en G1 qui implique p53 permet l’élimination des cellules ayant des lésions de l’ADN. Lorsque p53 est activée, elle agit comme un facteur de transcription et régule l’expression de nombreuses protéines impliquées dans les voies de régulation du cycle cellulaire (Shaw 1996). Il résulte généralement un blocage du cycle cellulaire en phase G1 (Smith, Zhan, Bae, et Fornace 1994). On note qu’un arrêt en G2 radio-induit peut également survenir (Morgan et

Kastan 1997).

Radiosensibilité en fonction du cycle cellulaire Il a été montré dès 1968 (Sinclair 1968) que la sensibilité intrinsèque des cellules était liée au cycle cellulaire. La figure 4.10 montre les courbes de survie cellulaire obtenue après synchronisation des cellules dans les différentes phases du cycle cellulaire. D'après ces courbes il semble évident que les cellules les plus sensibles sont celles qui se trouvent en phase G2/M. A l'opposé nous pouvons clairement voir que les cellules les plus résistantes sont celles qui sont en phase S. Ce phénomène peut s'expliquer par le fait qu'en phase S les mécanismes de réparations sont déjà actifs, pour réparer les erreurs créées au cours de la réplication de l'ADN, alors qu'il sont quiescent en phase G2/M.

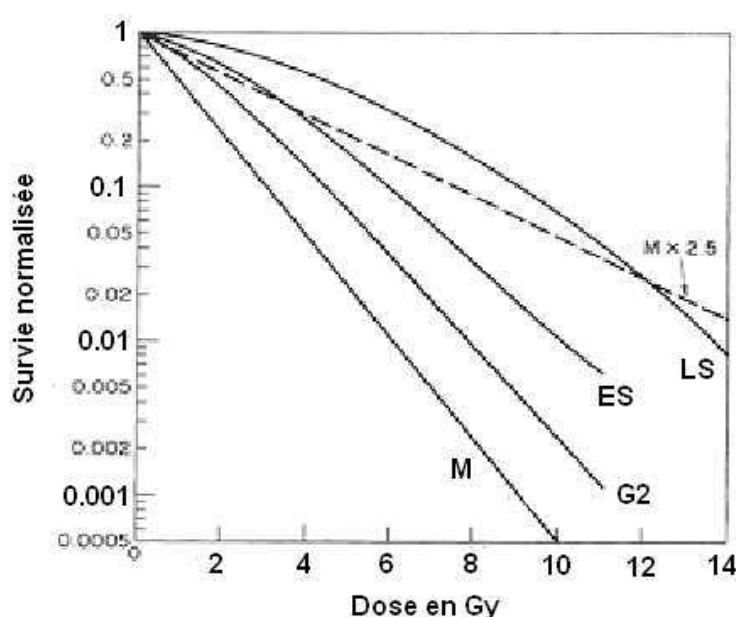


FIG. 4.10 – Effet de la position dans le cycle cellulaire sur la survie.

Influence des substances chimiques

L'effet des *D.M.F.* peut être d'accroître ou de diminuer l'effet d'une exposition. Ainsi par exemple de nombreuses études ont porté sur l'effet radioprotecteur de certaines substances (Gandhi et Nair 2004). Ces substances agissent comme des donneurs de H^\bullet et jouent le rôle de fixateur de dommages. L'intérêt étant, dans ce cas, de protéger les tissus sains et ainsi de pouvoir augmenter la dose délivrée au patient. Au contraire, Giocanti et Hennequin ont notamment étudié l'effet radiosensibilisant de l'étoposide *VP16*, poison de la topoisomérase II, sur des fibroblastes V-79 (Giocanti, Hennequin, Balosso, Mahler, et Favau-don 1993). La figure 4.11 présente les courbes de survie au rayonnement obtenues pour 3 concentrations de *VP16* (2.5 μM , 5 μM et 7.5 μM). On voit que la présence d'étoposide, en sus de la cytotoxicité propre à la substance, modifie l'allure de la courbe de survie. La courbe de survie devient en effet expo-

nentielle avec la substance chimique VP16. L'objectif d'un radiosensibilisant est d'améliorer l'efficacité du traitement par radiothérapie ce qui peut être très intéressant dans le traitement de certaines lésions classiquement très résistantes.

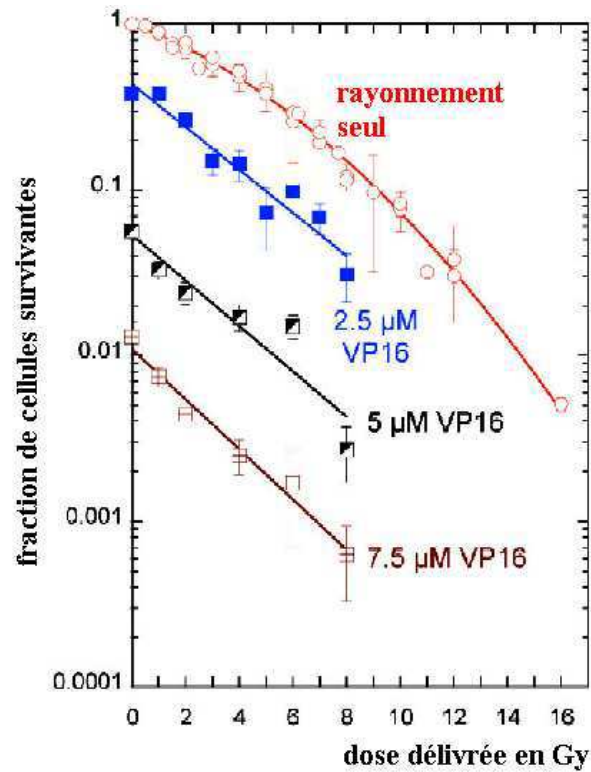


FIG. 4.11 – Influence de l'étoposide VP16 sur les courbes de survie cellulaire.

Cas de l'oxygène

L'effet oxygène a une grande importance en radiobiologie et en radiothérapie. Pour des rayonnements de faible *T.E.L.* (cas de la radiothérapie), on constate que les doses nécessaires pour obtenir un effet donné sont jusqu'à 3 fois plus élevées lorsque les cellules soumises à l'irradiation sont hypoxiques. Le rapport des doses à délivrer en absence et en présence d'oxygène pour obtenir le même effet s'appelle l'*O.E.R.* ³.

$$O.E.R._{effet\ biologique} = \frac{Dose_{sans\ O_2\ pour\ l'effet\ biologique}}{Dose_{avec\ O_2\ pour\ le\ meme\ effet}} \quad (4.14)$$

Nous avons montré précédemment ⁴ que cet effet de potentialisation s'explique en partie par la production de puissants oxydants lors de la décomposition radicalaire de l'eau en présence d'oxygène. La figure 4.12 présente l'effet oxygène sur la coube de survie cellulaire dans le cas de différents rayonnements.

³Oxygen Enhancement Ratio

⁴voir paragraphe 3.3.2 p. 69

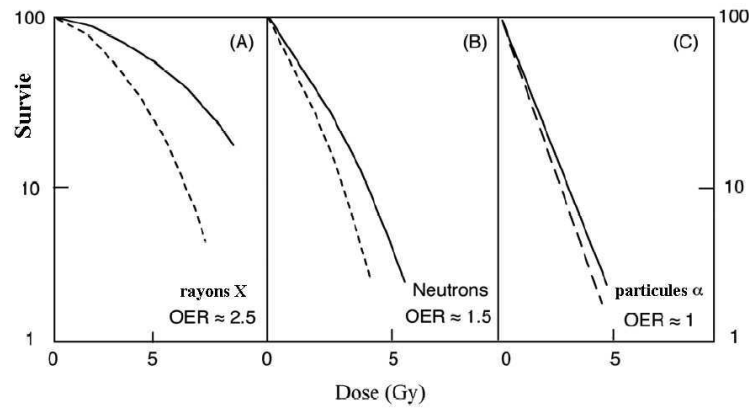


FIG. 4.12 – Influence de l'oxygène sur les courbes de survie cellulaire. Cas des rayons X, des neutrons et des particules α

Cas du changement de rayonnement

Le cas particulier du changement de rayonnement pour accroître l'effet radiobiologique est l'objectif de nos travaux sur l'hadronthérapie. Dans ce cas précis, on utilise un paramètre spécifique qui prend en compte l'effet relatif du nouveau rayonnement par rapport au rayonnement de référence. Ce paramètre s'appelle l'*E.B.R.*⁵.

L'efficacité biologique relative

A dose absorbée égale, l'effet biologique produit par une irradiation dépend de la "qualité" du rayonnement. L'efficacité biologique relative, *E.B.R.*, d'un rayonnement à étudier (test) comparé à un rayonnement de référence (ref) est définie pour un effet biologique donné comme le rapport :

$$E.B.R. \text{ effet biologique} = D_{ref} / D_{test} \quad (4.15)$$

dans lequel :

- D_{ref} est la dose absorbée correspondant à des rayons X de haute énergie (>1 MV) ou à des rayons γ du Cobalt 60,
- D_{test} est la dose du rayonnement à étudier qui entraîne le même effet biologique que le rayonnement de référence.

L'EBR dépend de multiples facteurs, à savoir :

- le système biologique étudié,
- la dose absorbée,
- les conditions d'irradiation (débit de dose),
- l'environnement (oxygénation),
- le T.E.L.

⁵Efficacité Biologique Relative

4.4 Cas particulier des courbes de survie observées avec les particules de haut LET

Les données radiobiologiques précédentes se rapportent essentiellement aux rayons X ou γ . Les courbes de survie avec les particules lourdes ont été également étudiées par de nombreux auteurs. Courdi et al (Courdi, Pignol, Iborra-Brassart, Hérault, Fares, Hachem, et Chauvel 1998) ont présenté des travaux mettant clairement en évidence le lien entre la radiosensibilité cellulaire et le $T.E.L.$. Cette équipe a montré l'augmentation de l' $E.B.R.$ jusqu'à des $T.E.L.$ de l'ordre de $200 \text{ KeV}/\mu\text{m}$ puis une diminution pour des $T.E.L.$ plus élevés à cause du phénomène "d'over-killing". J. Gueulette et al. ont proposé une méthodologie de détermination de l' $E.B.R.$ dans les faisceaux de neutrons (Gueulette, Breteau, Sabattier, et Wambersie 1982). Ces auteurs ont également réalisé de nombreuses intercomparaisons de l' $E.B.R.$ sur différents faisceaux de particules lourdes (Gueulette, Beauduin, Gregoire, et al. 1996). Ando et al. (Ando, Koike, Uzawa, Takai, Fukawa, et al. 2005) ont démontré l'intérêt radiobiologique de la radiothérapie par ions carbone, sur des souris en mettant en évidence la réponse tumorale précoce ainsi que les réactions précoces au niveau de la peau. Les cas des particules de haut $T.E.L.$ nécessitent une étude particulière. En effet, ce type de rayonnement possède des caractéristiques radiobiologiques différentes qui font d'ailleurs leur intérêt dans le traitement du cancer.

$T.E.L.$ et forme de la courbe de survie cellulaire

Après une irradiation par un rayonnement à TEL élevé, on observe généralement des courbes de survie cellulaire de forme exponentielle. Celles-ci peuvent être représentées par une expression de la forme :

$$S = e^{-\alpha D} \quad (4.16)$$

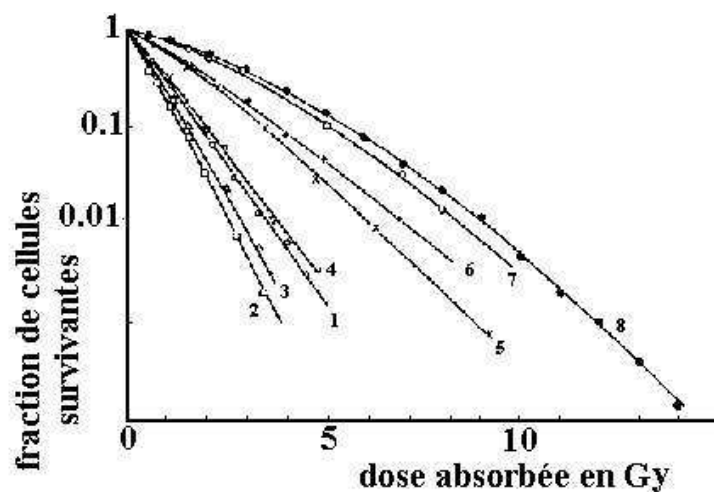


FIG. 4.13 – Influence du $T.E.L.$ sur les courbes de survie cellulaire.

La figure 4.13 compare des courbes de survie cellulaire obtenues après une irradiation par des rayonnements de *T.E.L.* croissant. Les courbes 1 à 5 concernent des particules α d'énergie croissante (2,5 ; 4 ; 5,1 ; 8,3 et 26 MeV), les courbes 6 et 7 correspondent à des deutons (3 et 14,9 MeV) et la courbe 8 à des X de 250 kV.

La figure 4.14 représente une comparaison entre les courbes de survie cellulaire pour des gamma et des neutrons.

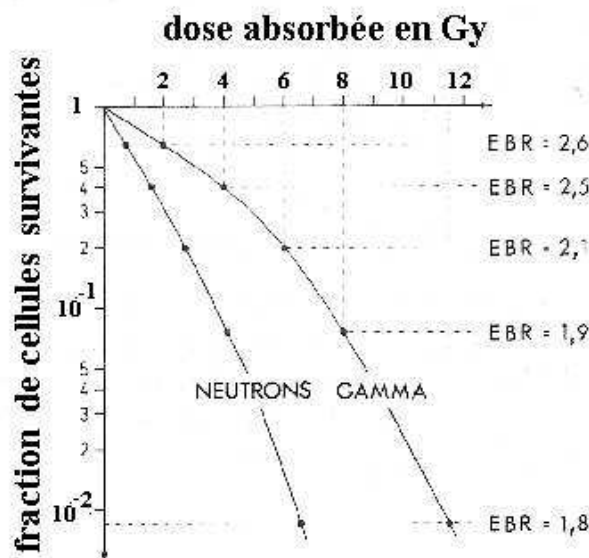


FIG. 4.14 – Courbes de survie comparées pour les neutrons et les γ .

Ainsi, lorsque le *T.E.L.* augmente, on remarque une augmentation de la pente initiale, une réduction de l'épaule et une augmentation de la pente finale. Ceci correspond à une augmentation de l'importance relative de la létalité par lésions létales d'emblée par rapport à la létalité par accumulation de lésions sublétales, c'est à dire, en terme de modèle linéaire-quadratique, à une augmentation progressive de la composante linéaire (αD) par rapport à la composante quadratique (βD^2).

De ce fait, suite à une irradiation par un rayonnement de *T.E.L.* élevé, la courbe de survie observée peut être représentée en première approximation par une exponentielle.

T.E.L. et action des *D.M.F.*

L'action des facteurs modifiant l'effet de la dose de rayonnement ⁶ va dépendre de la nature du rayonnement utilisé et plus précisément du *T.E.L.* du rayonnement. De nombreuses études ont démontré notamment que l'effet oxygène est d'autant moins sensible que le *T.E.L.* est élevé (Hall 2000), (Raju, Amols, Bain, et al. 1978). Comme le montre la figure 4.12, l'effet radiosensibilisant de l'oxygène n'est quasiment plus visible avec les particules α ($O.E.R. \approx 1$), peu sensible avec les neutrons ($O.E.R. \approx 1.5$)

⁶*D.M.F.*

et très important en rayonnement X ($O.E.R. \approx 3$).

La figure 4.12 présente l'évolution de l' $O.E.R.$ en fonction du $T.E.L.$ du rayonnement. On constate une diminution de la sensibilité à l'effet oxygène (diminution de l' $O.E.R.$) lorsque les particules α (de $T.E.L.$ élevé) sont utilisées. De même, l'équipe de Chiba (Masao, Yoko, Tatsuaki, et koichi 2000) a démontré que si l'effet du fractionnement persistait avec les ions carbone, avec notamment une amélioration du rapport ($E.B.R._{pic}/E.B.R._{plateau}$), l'utilisation des ces ions permettait en revanche de diminuer considérablement les changements de radiosensibilité observés lors d'expériences en dose fractionnée avec les photons.

4.5 Conclusions

Nous avons présenté dans le chapitre précédent les principaux effets biologiques des rayonnements ionisants. Ces effets peuvent conduire à la mort de la cellule. Ce chapitre montre l'intérêt de l'étude des courbes de survie cellulaire dans la compréhension des effets radiobiologiques des rayonnements ionisants. La réalisation des courbes de survie est cependant délicate et seuls quelques spécialistes sont internationalement reconnus pour la réalisation d'étalonnages biologiques des faisceaux de rayonnement (Gueulette, Beauduin, Gregoire, et al. 1996). On constate de plus :

- une allure très variable des courbes de survie en fonction de multiples paramètres pour une même lignée cellulaire,
- qu'il existe plusieurs modèles mathématiques pour décrire les points expérimentaux parmi lesquels il est très difficile de choisir celui qui traduit le mieux la réalité,
- qu'il s'agit le plus souvent d'études *in-vitro* dont l'extrapolation au cas de cellules *in-vivo* d'un organe est discutable.

Il est également important de souligner le fait que, par définition, les courbes de survie ne prennent pas en compte les cellules qui auraient subi des modifications et des mutations génétiques. De telles cellules sont en effet considérées comme survivantes à l'irradiation. Dans le cas d'une utilisation à visée thérapeutique des rayonnements ionisants, il est crucial de connaître les éventuels effets à long terme de l'irradiation (mutations, cancérogénèse ...). Cependant, il s'avère que les courbes de survie cellulaires sont un excellent moyen de modélisation des effets radiobiologiques des rayonnements ionisants. Ces courbes de survie sont indispensables dans la détermination expérimentale de l' $E.B.R.$ d'un rayonnement donné. Il s'agit toutefois d'une méthode expérimentale longue et difficile à mettre en oeuvre. Pour ces raisons seules quelques lignées cellulaires ont été étudiées. Quelques auteurs se sont penchés sur des modèles physiques de prédiction des effets biologiques des particules de haut $T.E.L.$ connaissant l'effet biologique avec des photons.

L'objectif de notre travail porte sur la détermination de l' $E.B.R.$ des hadrons à partir des courbes de survie. Notre recherche s'est plus particulièrement concentrée sur les modèles physiques de prédiction des

effets biologiques des particules de haut $T.E.L.$ connaissant l'effet biologique avec des photons. On se propose de présenter, dans le chapitre suivant, deux modèles de prédiction basés sur la structure de trace des particules lourdes chargées.

Chapitre 5

Application des modèles de traces en radiobiologie

5.1 Introduction

Un modèle de trace est un modèle de nanodosimétrie permettant de prédire l'effet d'une irradiation hadronique sur la matière. Comme nous l'avons présenté précédemment voir paragraphe 1.3.4 p. 26, les modèles de traces ont été initialement développés pour prédire la réponse des détecteurs, utilisés en physiques, aux particules chargées lourdes. De nombreux auteurs ont ensuite adapté ces modèles de traces pour prédire la réponse des systèmes biologiques aux particules lourdes chargées.

5.2 Le modèle de Katz

La théorie des traces a été développée par Katz et al. (Katz et Butts 1965) dans les années 60. La base de cette théorie de traces repose sur la modélisation du dépôt d'énergie autour de la trajectoire des ions. Cette modélisation s'appuie sur les travaux de Butts et Katz (Butts et Katz 1967). Utilisant ce modèle du dépôt local d'énergie, Katz et al ont été les premiers à connecter la réponse d'un détecteur aux particules chargées lourdes à la réponse que ces détecteurs présentent lorsqu'ils subissent une irradiation homogène par des photons.

Ils ont montré (Kobetich et Katz 1968b) notamment, en considérant que les grains de l'émulsion sont des cibles à 1 coup, que la probabilité qu'un grain de l'émulsion soit rendu développable est :

$$p = 1 - e^{-(D/D_0)} \quad (5.1)$$

Avec

– D , la dose déposée sur le grain,

- D_0 , la dose pour laquelle 63% des grains sont rendus développables lors d’une irradiation homogène en photon.

Par conséquent, la probabilité qu’un grain ne soit pas développable (« survive ») est donc :

$$S = e^{-(D/D_0)} \quad (5.2)$$

Même si les modèles de survie cellulaires sont plus compliqués et si les simplifications conceptuelles qui rendent possible l’analyse des traces dans les milieux simples, comme une émulsion, ne sont pas applicables aux cellules, Katz et al ont émis l’hypothèse que les effets biologiques produits par une particule chargée pouvaient être déduits de ceux observés lors d’une irradiation photonique. Ils ont supposé que la réponse d’un petit volume (par exemple un site sensible comme une mitochondrie ou un noyau) près de la trace de l’ion était identique à la réponse d’un système plus grand enveloppant ce petit volume irradié à la même dose par des photons. La survie cellulaire est modélisée par deux phénomènes complémentaires :

- Le mode “*ion-kill*” qui est la probabilité d’inactivation de la cellule par le passage d’un seul ion (c’est le mode approprié dans le cas limite des haut *T.E.L.* et des faibles fluences)
- Le mode “ *γ -kill*” qui est la probabilité d’inactivation de cellules par l’accumulation des actions de plusieurs ions. (c’est le mode approprié pour les hautes fluences de photons ou d’ions de bas *T.E.L.*).

5.2.1 Le mode “*ion-kill*”

Katz fait l’hypothèse qu’à basse fluence, seul le mode “*ion-kill*” intervient. On estime que sur une population de N_0 cellules, nous attendons N' cellules survivantes à ce mode “*ion-kill*” avec :

$$N' = N_0 \times e^{-\sigma \times F}, \quad (5.3)$$

Avec :

- F , la fluence de particules,
- σ , la section efficace d’inactivation par 1 seul coup dans la cellule. σ sera quantifié plus tard.

On suppose que la réponse cellulaire aux électrons secondaires est donnée par la relation mathématique provenant du modèle statistique de m sites sensibles à 1 coup. En accord avec ce modèle la probabilité d’inactivation de la cellule qui reçoit une dose moyenne D est :

$$P = \left(1 - e^{-(D_{ion}/D_0)}\right)^m \quad (5.4)$$

La dose moyenne d’ions, D_{ion} , s’exprimant comme le rapport :

$$Z^2/k\beta^2 \quad (5.5)$$

Avec :

- Z , la charge de l’ion

- k , est un paramètre libre reflétant la dimension, dans l'axe du faisceau, des sites sensibles,
- β , la vitesse relative de l'ion

Les auteurs définissent une fraction de dose associée au mode "*ion-kill*" par la relation :

$$D_{ion} = P \times D_{tot} \quad (5.6)$$

Avec :

- D_{tot} , la dose totale d'irradiation,
- P , la probabilité d'inactivation dans le mode "*ion-kill*".

Il est alors possible de définir la fraction de dose associée au mode " *γ -kill*" par la dose complémentaire.

$$D_{\gamma} = D_{tot} - D_{ion} \quad (5.7)$$

La probabilité P est également associée à la section efficace d'inactivation dans le mode "*ion-kill*" par :

$$P = \frac{\sigma}{\sigma_0} \quad (5.8)$$

Avec :

- σ_0 , la section efficace de saturation obtenue pour des ions de haut *T.E.L.* et de faible vitesse.

5.2.2 Le mode " *γ -kill*"

Il existe cependant un autre mode d'inactivation des cellules. Effectivement, comme l'inactivation lors d'une interaction gamma peut être provoquée par la somme des contributions des électrons secondaires mis en mouvement, une cellule peut être inactivée du fait de la contribution de plusieurs ions. En effet, l'inactivation à haute fluence provient de la superposition des effets des électrons delta de plusieurs ions. Ce mode d'inactivation, qui nécessite la contribution des électrons delta mis en mouvement par plusieurs ions est appelé " *γ -kill*". La probabilité d'inactivation dans ce mode " *γ -kill*" est donné par :

$$P_{\gamma} = 1 - \left(1 - e^{-(1-P) \times D_{tot}/D_0}\right)^m \quad (5.9)$$

5.2.3 Somme des deux modes

Finalement, on obtient N cellules survivantes aux 2 modes :

$$N = N_0 \times e^{-\sigma \cdot F} \times \left(1 - \left[1 - e^{-(1-P) \times D_{tot}/D_0}\right]^m\right) \quad (5.10)$$

Avec

$$P = \sigma/\sigma_0 \quad (5.11)$$

Pour une dose D_{tot} de particules, la relation s'exprime également :

$$N/N_0 = e^{(-P \cdot \sigma_0 \cdot D/LET)} \times \left(1 - \left[1 - e^{-(1-P) \times D_{tot}/D_0}\right]^m\right) \quad (5.12)$$

Ce modèle avec 4 paramètres expérimentaux peut-être utilisé pour évaluer la survie cellulaire.

Pour une lignée donnée, 2 de ces paramètres sont obtenus à partir des courbes de survie photons pour lesquelles la fraction survivante au mode ion kill est égale à 1 et donc $P=0$.

- m est un nombre extrait par extrapolation, à partir des courbes de survie photon, considéré comme associé à la multiplicité des cibles subcellulaires.
- D_0 (« D_{37} dose ») est la dose extrapolée (dose pour laquelle $s = e^{-1}$ qui est considérée comme étant reliée à la radiosensibilité des sites sensibles exposés aux électrons secondaires.

Les 2 autres paramètres sont obtenus à partir des courbes de survie avec les particules .:

- σ_0 est déterminé à partir des mesures de survie cellulaire obtenues lors des expériences d'irradiation en "track-segment" (cible mince) avec des particules de haut $T.E.L.$ ($Z = 9$ et $v = 10$ MeV/u) pour lesquelles, $P \approx 1$. σ_0 est le plateau (ou la valeur de saturation) de la section efficace d'inactivation qui représente la section efficace du noyau cellulaire.
- k est déterminé à partir des courbes de survie indiquant un RBE maximal et pour lesquelles, $P \approx 0.5$. k est obtenu à partir des données disponibles avec les particules de hauts $T.E.L.$ pour lesquelles la RBE est proche de sa valeur maximale. Ceci survient lorsque :

$$z/(k.\beta^2) = 2 \quad (5.13)$$

Remarque : La valeur de saturation de σ_0 est obtenue lorsque :

$$z/(k.\beta^2) \approx 4 \quad (5.14)$$

Avec :

- z : charge effective des particules incidentes
- β : vitesse relative des particules
- k : peut être interprété comme « reflétant » l'épaisseur des sites sensibles de la cellule.
- z^2/β^2 : représente le pouvoir d'arrêt des particules incidentes
- $z^2/(k.\beta^2)$: reflète alors l'énergie déposée dans un site sensible

5.3 Le modèle d'effet local, $L.E.M.$, de Scholz et Kraft

5.3.1 Description

Dans les articles décrivant le $L.E.M.$, le modèle est présenté comme une succession d'étapes claires mais non nécessairement justifiées. Nous avons mené un important travail de réflexion sur les bases de ce modèle en tentant d'analyser les différentes étapes.

Le $L.E.M.$, comme le modèle de Katz, est un modèle de traces. Il est destiné à prédire l'effet d'une irradiation hadronique sur un système biologique connaissant la réponse de ce système à une irradiation photonique. La base de cette théorie repose sur la modélisation du dépôt d'énergie autour de la trace des

ions. Scholtz et al, (Scholz 1996) expliquent notamment que par rapport à une irradiation photonique, la différence apportée par un faisceau de particules chargées pouvant expliquer l'accroissement de l'effet biologique repose essentiellement sur la forme de la distribution spatiale de dose au voisinage de la trajectoire de l'ion (c'est à dire dans la trace). En effet, l'hétérogénéité de la distribution de dose à l'intérieur de la trace d'une particule lourde chargée permet l'interprétation de ces différences d'effets entre les radiations de faible et de fort transfert d'énergie linéique *T.E.L.* .

Les idées directrices de ce modèle sont les suivantes :

- Les effets biologiques des ions ne sont pas liés à la dose globale, mais à la dose locale
- L'effet global sera la somme des contributions des effets locaux.

Comme nous l'avons présenté précédemment voir paragraphe 1.3.4 p. 26, la distribution radiale de dose est une fonction de la vitesse de l'ion. Ceci permet de prendre en compte l'effet de vitesse dans le calcul des effets biologiques.

Deux hypothèses fortes sous-tendent ce modèle :

- La structure sensible de la cellule est uniformément et exclusivement contenue dans le noyau cellulaire.
- L'effet biologique est entièrement déterminé par la distribution spatiale de dose dans le noyau cellulaire; En d'autres termes, il n'y a pas de différence entre l'effet d'un dépôt local d'énergie engendré par des photons ou d'un dépôt local généré par des particules chargées.

La base de l'approche de Scholtz consiste en un décompte des effets biologiques créés localement dans le noyau cellulaire (on détermine les effets biologiques correspondant à une dose locale donnée).

Les principes de ce décompte des effets biologiques peuvent se résumer ainsi :

- Les effets biologiques qui conduisent à la mort cellulaire sont des événements dit « létaux » qui ne se produisent que dans le noyau cellulaire
- La probabilité d'occurrence d'un événement létal ne dépend pas de la position dans le noyau
- Cette probabilité nulle hors du noyau est une fonction de la dose locale au sein du noyau
- Cette fonction est la même que pour une irradiation aux X
- Du fait de la nature homogène des expériences d'irradiation aux X, on extrait cette fonction des courbes de survie aux R-X à partir d'un modèle statistique

Trois données expérimentales sont utilisées comme paramètres d'entrées pour le calcul des effets biologiques :

- Les courbes expérimentales de survie cellulaires en photons X ou γ .
- La distribution radiale de dose $D(r)$ autour de la trajectoire de l'ion.
- Le diamètre D_{cell} du noyau cellulaire.

Concernant les courbes de survie photons, plusieurs ajustements mathématiques permettent de représenter les points expérimentaux voir paragraphe 4.3 p. 90. Les simulations obtenues avec le *L.E.M.* sont

basées sur des courbes de survie photons ajustées selon le modèle linéaire quadratique de Puck et Markus (Puck 1956) jusqu'à une dose de transition, D_{seuil} , à partir de laquelle l'ajustement devient purement exponentiel. L'ajustement proposé s'exprime donc sous la forme :

– Si $D < D_{seuil}$

$$S = \exp^{-(\alpha.D + \beta.D^2)} \quad (5.15)$$

– Si $D \geq D_{seuil}$

$$S = S_0 \exp^{-(A.D)} \quad (5.16)$$

avec

$$S_0 = \exp^{-(\alpha.D_{seuil} + \beta.D_{seuil}^2)} \quad (5.17)$$

et

$$A = \alpha + 2 \times \beta.D_{seuil} \quad (5.18)$$

L'ajustement mathématique proposé dans le modèle de Scholz et al. est schématisé par la figure 5.1.

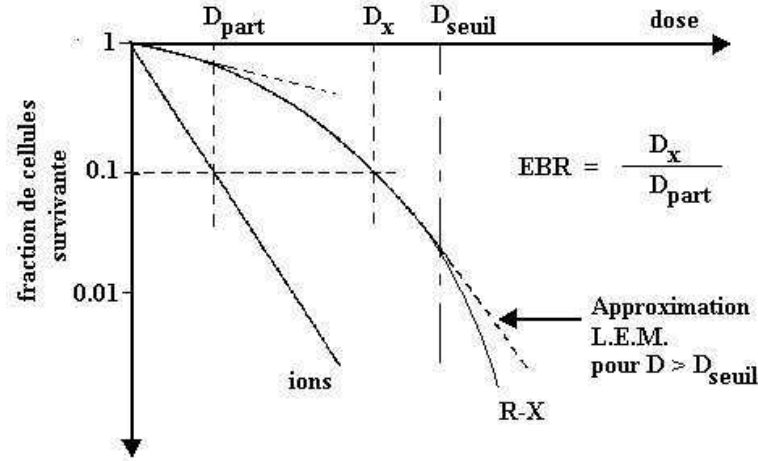


FIG. 5.1 – Ajustement des courbes de survie photons dans le modèle de Scholz et al..

Pour extraire la fonction de probabilité d'occurrence d'un événement létal, Scholz et al. proposent une interprétation des courbes de survie aux R-X en termes d'événements létaux (à partir d'un modèle statistique (Scholz et Kraft 1994)). On admet ainsi qu'une cellule meurt si elle subit au moins un événement létal. A contrario, la cellule survie si elle ne reçoit aucun événement létal soit :

$$\text{Survie cellulaire} = P(\text{zero événement létal}) \quad (5.19)$$

Nous soulignons le fait, qu'avec les rayons X, la dose macroscopique est déposée uniformément ce qui nous permet de déduire que la densité des événements potentiellement¹ létaux est elle aussi uniforme.

¹potentiellement létaux = létaux si dans le noyau cellulaire

Nous avons également noté que Scholz et al. supposent, de plus, que les événements sont indépendants. Ceci signifie que l'existence d'un événement potentiellement létal en un point ne change pas la probabilité qu'un autre événement se produise au voisinage.²

Dans ces conditions, on démontre que la distribution du nombre d'événements létaux suit une loi de Poisson de paramètre nommé N_{letal} . Dans ce cas, la Survie Cellulaire devient :

$$S = e^{-N_{letal}} \quad (5.20)$$

N_{letal} prend alors la signification du nombre moyen d'événements létaux produits pour une cellule irradiée à une dose donnée D . En effet, irradiée à une dose D , une cellule subit de multiples excitations et ionisations. Une concentration importante de ces événements au niveau du noyau conduit à la mort cellulaire. $N_{letal}(D)$ est le nombre moyen de ces événements qui se produisent à une dose D

A partir des courbes de survie aux R-X, on peut obtenir une estimation expérimentale de N_{letal} :

$$N_{letal}(D) = -Ln(Survie Cellulaire (D)) \quad (5.21)$$

où (Survie Cellulaire (D)) est mesurée expérimentalement

Ce nombre moyen d'événements létaux, N_{letal} doit être pondéré par le volume concerné par ces événements, c'est à dire le noyau cellulaire. On calcule donc la densité volumique d'événements létaux à une dose D qui s'exprime comme :

$$N(D) = -\frac{Ln(Survie Cellulaire(D))}{Volume\ du\ noyau} \quad (5.22)$$

Soit encore

$$N(D) = -Ln(S(D))/V_n \quad (5.23)$$

Dans ce cas, si D est la dose moyenne déposée dans un volume dV du noyau cellulaire, le nombre moyen d'événements létaux se produisant dans ce volume est :

$$dN_{letal} = N(D).dV \quad (5.24)$$

Par intégration sur le volume du noyau, on retrouve le nombre moyen d'événements létaux que subit la cellule.

En effet,

$$N_{letal} = \int \int \int_{noyau} dN_{letal}(D_{(x,y,z)}).dx.dy.dz = \int \int \int_{noyau} -\frac{ln(S(D_{(x,y,z)}))}{V_n}.dx.dy.dz \quad (5.25)$$

Comme en photons, $D(x,y,z) = D$ (dose uniforme),

$$N_{letal} = \int \int \int_{noyau} dN_{letal}(D).dx.dy.dz = -\frac{ln(S(D))}{V_n} \int \int \int_{noyau} .dx.dy.dz \quad (5.26)$$

soit finalement,

²ce n'est pas le cas pour les ions de haut *T.E.L.* du fait de la haute densité d'ionisation de la trace

$$N_{letal} = -\frac{\ln(S(D))}{V_n} \cdot V_n \quad (5.27)$$

Dans le cas d'une irradiation hadronique, la dose dans le noyau cellulaire est loin d'être homogène, surtout si la trajectoire de l'ion est voisine du noyau.

Connaissant la distribution radiale de dose $D(r)$ autour de la trajectoire de l'ion ³ et donc $D(x, y, z)$, l'intégration sur le volume du noyau, malgré sa complexité, est possible et doit être réalisée numériquement.

Sur le volume nucléaire on obtient alors :

$$N_{letal} = \int \int \int -\frac{\ln(S(D(x,y,z)))}{V_n} \cdot dx \cdot dy \cdot dz \quad (5.28)$$

Dans le modèle de Scholz et al., l'hétérogénéité de $D(x,y,z)$ dans le cas des ions de haut $T.E.L.$, explique la différence d'efficacité de ces ions vis-à-vis des photons.

Méthodologie dans le modèle de Scholz et al.

Il s'agit de présenter brièvement ici les principales étapes de calculs mis en jeu dans le modèle *L.E.M.* de Scholz et al..

Pour une dose D et une nature d'ion fixées : une configuration d'irradiation, sur une zone d'intérêt donnée, est tirée aléatoirement. Il s'agit de définir :

- Le nombre d'ions N_{ion}
- La trajectoire de ces ions

En d'autres termes, pour un axe (O_z) dans la direction du faisceau, on tire aléatoirement N_{ion} couples (x_i, y_i) représentant les coordonnées cartésiennes des ions.

Rm : La dose délivrée avec les ions intervient dans la probabilité de tirer un nombre d'ions donné (N_{ion}). La figure 5.2 représente une configuration de 4 ions tirés dans la zone d'intérêt. Les anneaux concentriques représentent des isodoses radiales autour des trajectoires de chaque ion.

La zone d'intérêt est déterminée par la portée maximale du dépôt radial de dose autour de la trajectoire de l'ion. Ce « rayon maximal d'action », dépendant de la vitesse de l'ion, est donné par la formule :

$$R_{max} = 0,05 \cdot E_{part}^{1,7} \quad (5.29)$$

R_{max} s'exprime en μm et E_{part} en MeV/nucléon. Comme l'indique la plupart des modèles de traces (Katz, Scholz, Cuccinota), la distribution radiale de dose décroît en $1/r^2$ jusqu'à R_{max} . Scholz et al ont retenu comme modélisation approchée de la distribution de dose :

- une dose constante jusqu'à $R_{min} = 10 \text{ nm}$
- une décroissance en $1/r^2$ de R_{min} à R_{max}
- une dose nulle au-dessus de R_{max}

³le modèle de dose radiale est un paramètre d'entrée (input)

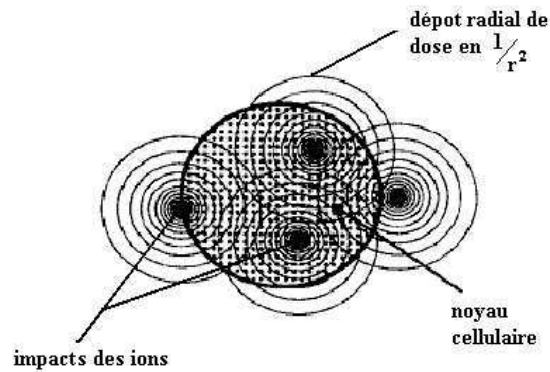
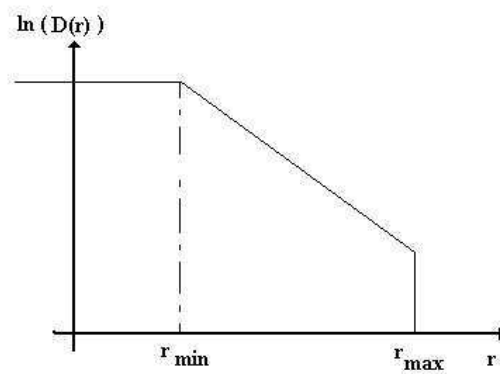


FIG. 5.2 – La configuration d'un pulse dans le modèle de Scholz et al..

FIG. 5.3 – Représentation de la distribution radiale de dose dans le modèle de Scholz et al.. La dose est en coordonnée logarithmique, on distingue sur l'axe des rayons R_{min} et R_{max}

La figure 5.3 représente la distribution radiale de dose autour de la trajectoire de l'ion en coordonnées semi-logarithmiques. La portée maximale en dose radiale est représentée par R_{max} . Pour un noyau donné, la zone d'influence a donc un rayon de $R_{cell} + R_{max}$.

- A partir de ce modèle de dose radiale, on calcule la dose $D(x,y,z)$ pour chaque point du noyau.

Remarque : La nature Z_p et vitesse V_p des ions se retrouvent dans la distribution de dose radiale.

- A partir de la densité volumique d'évènements létaux, extraite des courbes de survie en R-X, on calcule, en chaque point du noyau de la cellule, la contribution en évènements létaux (dN_{letal}).

Remarque : Le comportement de la cellule aux irradiations se trouve pris en compte dans la courbe de survie aux X.

Considérant une configuration d'ions donnée (figure 5.2), la contribution locale en événements létaux au point r s'exprime comme :

$$dN_{letal} = -\ln \left(S_x \left[\sum_{ions} D(r - r_i) \right] \right) / V_n \quad (5.30)$$

Pour obtenir le nombre d'événements létaux sur l'ensemble du noyau (N_{letal}), on intègre sur le volume du noyau.

Remarque : La zone sensible de la cellule, c-à-d le noyau, intervient dans l'intégration sur le volume.

Ce nombre d'événements létaux est alors :

$$N_{letal} = \int \int \int dN_{letal} \cdot dx \cdot dy \cdot dz \quad (5.31)$$

Finalement, pour une configuration d'ions, on calcule la probabilité de survie :

$$S = e^{-N_{letal}} \quad (5.32)$$

La survie moyenne est calculée sur un grand nombre de configurations d'ions tirées aléatoirement.

Concrètement, pour simplifier le calcul, Scholz et al. ont supposé le noyau cellulaire de forme cylindrique. Ceci permet d'intégrer sur une section du noyau plutôt que sur le volume entier. En d'autres termes, Scholz et al. se placent dans un plan perpendiculaire à la trajectoire des ions et ramènent toute la simulation à un problème plan. Dans ce plan, le noyau cellulaire est représenté par un disque de section efficace géométrique S_{noyau} (figure 5.4).

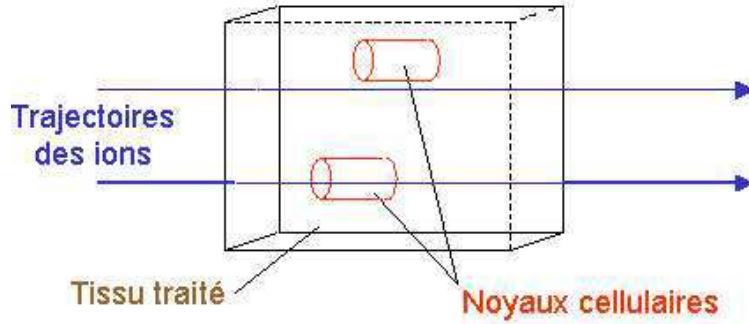


FIG. 5.4 – Représentation géométrique de la simulation. On ne considère que la section efficace S_{noyau} représentée par la surface de la base du cylindre

5.3.2 Résultats

Le modèle développé par Scholz et Kraft permet théoriquement de prédire la survie cellulaire aux ions sans aucun paramètre ajustable⁴ (Scholz et Kraft 1994). Les résultats de ce modèle, présentés dans

⁴paramètre libre

diverses publications (Scholz 1996), (Scholz, Kellerer, Kraft-Weyrather, et Kraft 1997), (Scholz et Kraft 1996) sont très intéressants. La confrontation aux données expérimentales, montre clairement l'intérêt de ce modèle dans la prédiction de la survie cellulaire avec les particules de haut *T.E.L.* . La figure 5.5 illustre bien la concordance entre les simulations et les résultats expérimentaux (Scholz, Kellerer, Kraft-Weyrather, et Kraft 1997).

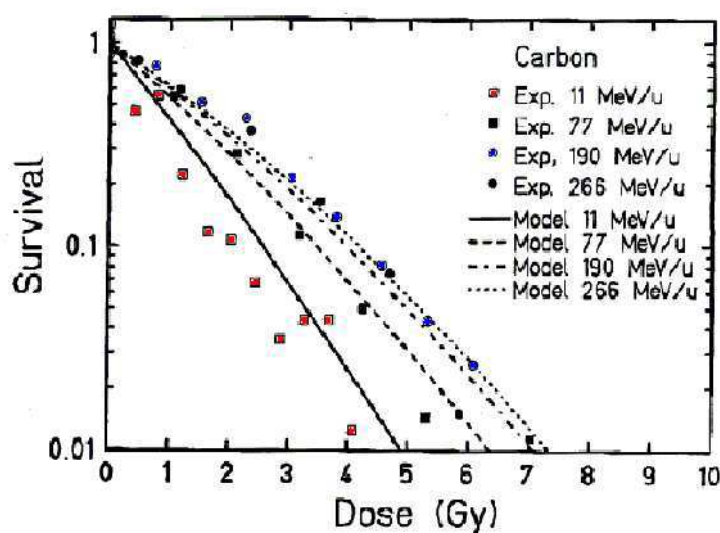


FIG. 5.5 – Résultats des simulations numériques et résultats expérimentaux.

Les auteurs montrent également que l'*E.B.R.* passe par un maximum lorsqu'il est représenté en fonction du *T.E.L.* de la particule (cf figure 5.6). A faible *T.E.L.* , c'est à dire pour un ion encore hautement énergétique, l'*E.B.R.* est proche de 1. En effet à cette vitesse, l'énergie perdue par l'ion est répartie sur un grand rayon et le gradient de dose est alors peu élevé. De plus, le *T.E.L.* étant faible, il faut un nombre d'ions relativement important pour obtenir la dose. Tout ceci contribue à homogénéiser la distribution de dose dans le milieu et donc à rapprocher les effets de l'ion à ceux des rayons X. Pour un *T.E.L.* plus élevé, l'effet de concentration de la dose augmente l'efficacité de l'irradiation. La non-linéarité et l'épaulement de la courbe de survie (ou du nombre moyen d'événements létaux) favorisent les fortes concentrations de dose. Du point de vue biologique, on dépasse probablement, par la gravité des dommages locaux, les capacités de réparation de la cellule. Ceci explique que l'on puisse obtenir le même taux de survie avec une dose globale moyenne plus faible apportée par un faisceau d'ions que par un faisceau de rayons X. Enfin, pour les *T.E.L.* les plus élevés, la vitesse de l'ion est petite. Le transport de l'énergie est extrêmement réduit et on assiste à une très grande concentration de dose. A ce niveau de dose, lorsque la trajectoire de l'ion traverse le noyau, la cellule meurt. Néanmoins, en admettant que l'ion ne traverse qu'une seule cellule, une partie de l'énergie sera « gaspillée » car on obtiendra le décès d'une seule cellule ; On parle d'*overkilling* dans ce cas. Dans ce domaine, pour un effet biologique global fixé,

lorsque le $T.E.L.$ augmente, la dose fournie localement augmente également et donc l' $E.B.R.$, qui mesure l'efficacité par rapport au R-X décroît et passe même en dessous de 1. La figure 5.6 illustre l'évolution de l' $E.B.R.$, calculé avec le $L.E.M.$ pour trois différents taux de survie (80%, 10% et 1%), en fonction du $T.E.L.$ des particules.

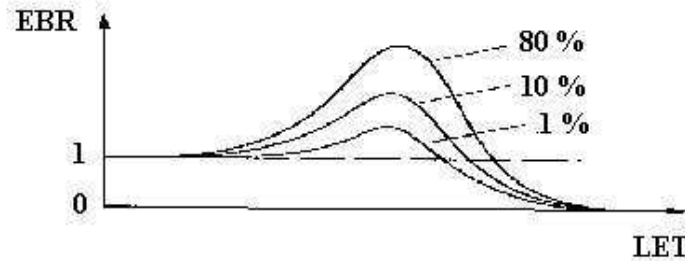


FIG. 5.6 – Evolution de l' $E.B.R.$, calculé avec le modèle $L.E.M.$, en fonction du $T.E.L.$ des particules.

Cette évolution de l' $E.B.R.$ en fonction du $T.E.L.$ des particules est également tout à fait conforme aux données expérimentales de la littérature (Courdi, Pignol, Iborra-Brassart, Hérault, Fares, Hachem, et Chauvel 1998).

L'interprétation ci-dessus explique également que l' $E.B.R.$ est plus élevée pour les cellules réparant mieux leur ADN car dans ce cas l'épaulement est plus marqué et l'effet de concentration de la dose encore plus efficace.

5.4 Discussion

Dans ce chapitre nous avons tenté d'expliquer les deux approches essentielles permettant de prédire les courbes de survie aux ions. Nous avons bien entendu noté les similitudes de la méthode développée par Scholz et al. (Scholz et Kraft 1992) par rapport aux travaux de Katz et al. (Katz et Butts 1965) qui, dès les années 1970, ont cherché à prédire, par un modèle physique de trace, la réponse d'un détecteur exposé aux particules de haut $T.E.L.$ connaissant la réponse de ce dernier aux photons.

Ces auteurs ont en effet étudié la réponse des émulsions nucléaires aux particules lourdes (Katz et Butts 1965) et (Kobetich et Katz 1968a). Ils ont clairement démontré qu'il était possible, de prédire leur réponse, à l'exposition de particules lourdes, à l'aide d'un modèle de trace qu'ils avaient développé (Katz et Butts 1965). A partir de la structure de trace révélée dans les émulsions autour de la trajectoire des particules lourdes, ces auteurs ont établi une théorie, dite théorie de trace, qui vise à expliquer le dépôt local d'énergie engendré par ces particules lorsqu'elles interagissent avec un détecteur. Ils ont notamment établi le rôle majeur des électrons delta mis en mouvement autour de la trajectoire des particules lourdes chargées dans la forme en $1/r^2$ du dépôt radial de dose (Kobetich et Katz 1968a) et (Cucinota, Katz, Wilson, et

Dubey 1995). Leur théorie permettant d'expliquer par exemple, qu'en fin de parcours, la portée radiale de dose autour de la trajectoire de l'ion est réduite alors que le transfert d'énergie linéique ($T.E.L.$) de la particule est maximal. Cette diminution de la largeur de la trace en fin de parcours est confirmée par l'expérimentation avec les émulsions nucléaires ou les autres détecteurs de traces (CR 39 par exemple).

La réponse des détecteurs, aux particules lourdes chargées, peut alors être calculée :

- à partir de ce modèle de trace.
- à l'aide des données relatives à la réponse de ces détecteurs lors d'une exposition aux R-X.

Le paramètre caractérisant le mieux la réponse des émulsions nucléaires aux R-X est l'énergie seuil D_0 nécessaire pour révéler 63% des grains de l'émulsion.

Nous retiendrons que Katz et al. ont établi un modèle, sans paramètre libre, tout a fait apte à prédire la réponse des émulsions nucléaires connaissant leur réponse aux R-X, la nature et la vitesse des particules projectiles. De la même façon, le modèle $L.E.M.$ de Scholz et al. est un modèle sans paramètre libre, basé sur la prise en compte locale d'événements létaux en s'appuyant sur des paramètres issus des courbes de survie aux R-X.

A la suite de ces travaux sur les émulsions, Katz et al. se sont également penchés sur le cas des cibles biologiques, comme les virus, les enzymes et les cellules (Butts et Katz 1967), (Katz, Ackerson, Homayoonfar, et Sharma 1971) et (Roth, Sharma, et Katz 1975). Ils ont déduit de leurs travaux que les cellules ne pouvaient pas être traitées comme un détecteur qui se comporte comme une cible à 1 coup. Ils ont ainsi établi pour le cas de la survie cellulaire un modèle à 4 paramètres radiobiologiques permettant le calcul de la survie cellulaire aux ions. Les paramètres de leur modèle, liés à la radiosensibilité sont :

- D_0 : déterminé par irradiation X,
- m représente le nombre de cibles subcellulaires (épaulement de la courbe de survie au R-X),
- σ_0 , représente la dimension de la cible cellulaire, déterminé par irradiation particulaire,
- K , représente la position du pic dans la relation $E.B.R. = f(T.E.L.)$.

Bien entendu, la connaissance de la nature, de l'énergie et de la vitesse des ions est requise pour ce modèle. Les résultats présentés par ces auteurs (Katz, Ackerson, Homayoonfar, et Sharma 1971) et (Roth, Sharma, et Katz 1975) montrent une bonne concordance par rapport aux données expérimentales. Nous retiendrons, dans le modèle de Katz, les deux modes d'inactivation : le mode " γ -kill", propre aux R-X et le mode " ion -kill", propre aux particules de haut $T.E.L.$. **Le modèle de trace de Katz et al. de prédiction de la survie cellulaire, est fondé sur des paramètres liés aux expériences en R-X mais également sur des paramètres issus des expériences avec les particules de haut $T.E.L.$.**

Dans le modèle de Scholz et al., la courbe de survie photon est la base du décompte des événements létaux. Il faut donc admettre qu'elle contient intrinsèquement tous les phénomènes de létalité. Il s'agit là d'une différence importante par rapport au modèle de Katz et al. où il existe une séparation

claire des paramètres “photons” et “ions”. Le *L.E.M.* est basé sur des paramètres d’entrée accessibles par l’expérience en photons uniquement. Ce modèle procure une relation, confirmée par l’expérience, entre la « section efficace d’inactivation » de la cellule (mort cellulaire) d’une part et le Transfert d’Energie Linéique ainsi que l’énergie spécifique de la particule d’autre part. Le modèle tend à expliquer que les fortes doses locales contribuent fortement à la mort cellulaire. La prise en compte de l’effet local est la force de ce modèle. En effet, les ions ont tendance à concentrer le dépôt de leur énergie près de leur trajectoire avec des doses pouvant s’évaluer en MégaGray. Avec de telles doses, les lésions provoquent, presque à coup sur le décès de la cellule. D’autre part, l’épaulement de la courbe de survie en photons X qui traduit vraisemblablement la faillite des réparations au-dessus d’un certain seuil implique que les fortes doses augmentent beaucoup plus le nombre moyen d’événements létaux que des doses plus faibles. Nous retiendrons ici, l’intérêt de ce modèle qui est sa capacité à représenter les propriétés générales de l’effet biologique des particules de haut *T.E.L.*, en terme de mort cellulaire, par le seul « dépôt local de dose ». Dans ce modèle, simple (aucune spécificité des lésions, propre aux particules, ne rentre en ligne de compte) aucun paramètre libre n’est censé être ajusté. Nous notons également que le *L.E.M.* a été évalué par les auteurs du modèle et pour un nombre restreint de lignées cellulaires. Le *L.E.M.* semble être approprié au calcul, par les systèmes de planimétrie du traitement, d’une dose biologique équivalente aux photons et plus particulièrement dans le cas d’un faisceau de particules distribué de manière active. Pour ces raisons, il nous a semblé fondamental d’en apporter une analyse extérieure. Ceci à deux niveaux :

- dans le cadre d’une étude théorique,
- et dans le cadre d’une étude expérimentale, fortement encouragée par le réseau ENLIGHT, avec d’autres lignées cellulaires.

Le modèle $L.E.M.$: Simulation
numérique et Etude théorique

Chapitre 6

Modélisation de la survie cellulaire : notre approche, une variante du *L.E.M.*

Dès le début de nos travaux sur l'étude du modèle *L.E.M.*, il nous a semblé nécessaire de réaliser notre propre simulation afin de mieux cerner les limites de ce modèle, d'évaluer la sensibilité vis à vis des différents paramètres et d'essayer de justifier théoriquement ou d'infirmer certaines approximations. Ce travail a été initié par Maxime Durot, de l'école Polytechnique, lors d'un stage dans notre groupe de recherche.

6.1 Principes du modèle

Notre modèle s'appuie pour l'essentiel sur celui de Scholz et al. (Scholz et Kraft 1992). Néanmoins, il se distingue par deux différences essentielles :

- La prise en compte d'une distribution radiale de dose plus sophistiquée que la simple loi en $1/r^2$.
- La tentative d'intégrer une limite dans la notion de localité.

6.1.1 Introduction d'une limite dans la notion de localité

Si le premier point se comprend assez bien, le second mérite quelques explications. Dans l'approche de Scholz et al., les auteurs définissent une dose locale ce qui signifie une dose en un point infiniment précis. De la même façon ils définissent une densité d'événements létaux locale. Sur le plan physique, cette notion de localité est en toute rigueur incompatible sur le plan moléculaire avec une description correcte de la cible. Autrement dit on définit une première limite à cette notion de localité : celle de l'atome. Poursuivons le raisonnement, la notion de défaut tel que la cassure double brins de l'ADN, implique que l'évènement létal ait une certaine extension. Ceci signifie que la dose déposée en un point r peut contribuer à la formation d'un défaut au voisinage d'un point r' . Par ailleurs, la loi de description de la dose radiale

correspond à une dose déposée dans un temps estimé à $10^{-15}s$ (un peu plus pour les électrons Augers (de l'ordre de $10^{-9}s$). La formation des défauts n'est pas forcément le résultat direct d'une ionisation ou d'une excitation de l'ADN mais peut être, par exemple, le résultat de la formation de radicaux libres par les cascades électroniques, ces radicaux libres attaquant ensuite l'ADN après diffusion. Là encore, une dose déposée en $10^{-15}s$ en un point r peut conduire à la formation de défaut en un point r' à un instant postérieur.

Finalement nous proposons dans notre approche d'exprimer simplement cet aspect par la définition d'une dose moyenne sur une région non ponctuelle et de déduire la densité d'événements létaux dans cette région à partir de cette dose moyenne. Concrètement, nous construisons un quadrillage du noyau. La finesse de ce maillage représentant la limite à cette notion de localité. Dans la suite, nous ferons référence à ce quadrillage par le terme de "pixelisation". Un objectif important de notre étude est de vérifier si cette pixelisation joue un rôle important, à partir de quel seuil et si ce seuil a une signification (diffusion et taille de défaut).

6.2 Implémentation d'une simulation Monté Carlo

La réalisation de la simulation passe par la construction d'un programme informatique. Le langage C est bien adapté à ce type de tâche grâce à sa proximité au langage machine et à sa vitesse d'exécution. Une simulation Monte-Carlo repose en effet sur de nombreuses répétitions d'expériences et nécessite donc des calculs souvent longs. Le code de calcul que nous avons élaboré se décompose en plusieurs étapes :

- La définition des paramètres de l'expérience,
- Le tirage aléatoire d'une configuration de particules. Il s'agit des couples (x_i, y_i) représentant les coordonnées cartésiennes des ions. Le tirage complet d'une configuration s'appelle un pulse d'ions.
- Pour un pulse donné,
 - Le calcul pour chaque pixel de la dose moyenne déposée et du nombre moyen d'événements létaux correspondant,
 - Le calcul du taux de survie cellulaire par sommation sur l'ensemble des pixels des densités d'événements létaux .
- Le traitement statistique des résultats des différents tirages aléatoires.

Les entrées nécessaires au déroulement de la simulation :

- Plusieurs paramètres d'entrées, que nous détaillerons dans le paragraphe suivant, sont nécessaires à la simulations. Trois de ces paramètres sont associés à la cible, α , β et D_{seuil} et d'autres sont associés à l'irradiation (dose, charge des ions...).

Les grandeurs produites sont :

- La dose moyenne calculée sur l'ensemble des pulses,

- L'écart-type et l'incertitude statistique associés à la dose moyenne,
- Le taux de survie cellulaire,
- L'écart-type et l'incertitude statistique associés au taux de survie cellulaire,
- Le nombre d'événements létaux ,
- La pente de la courbe de survie aux ions, signifiante uniquement pour les faibles doses : α_{ion} ,
- La section efficace, signifiante uniquement pour les faibles doses exprimée en μm^2 .

6.2.1 Structure du programme

Compte tenu des différents types de tâches à accomplir, le programme décompose les grandes fonctions en quelques fichiers distincts :

- main.c est le programme principal qui contient la procédure globale. Il séquence les étapes,
- integration.c contient les procédures d'intégration de la dose dans les pixels,
- mathHadron.c contient les fonctions mathématiques nécessaires au programme.
- donnees-exp.c contient les données expérimentales (pouvoir d'arrêt, taux de survie aux rayons X)
- optim.c est un programme d'optimisation qui permet d'effectuer des simplifications au niveau de l'intégration sur les pixels dans certaines conditions géométriques.
- global.c contient les variables globales,
- define.h contient des constantes physiques et effectue le lien entre les fichiers (prototype des fonctions).

6.2.2 Exécution du programme

L'exécution de programme passe par l'acquisition des paramètres d'entrée nécessaires aux calculs.

Définition des paramètres d'entrée

Divers types de paramètres sont en entrée du programme :

- Les paramètres associés à l'irradiation :
 - Nature,
 - Energie,
 - Pouvoir d'arrêt de l'ion,
 - Dose physique du rayonnement
 - Forme de la distribution radiale de dose.
- Les paramètres associés à la cible :
 - Masse volumique du tissu,
 - Rayon du noyau cellulaire,
 - Paramètres α et β et D_{seuil} de la courbe de survie obtenue en photons
 - Taille du pixel physique.

- Les paramètres liés à la méthode Monte-Carlo :
- Nombre d'itérations.

Les paramètres associés à l'irradiation

- L'utilisateur choisit la dose physique, la nature et la vitesse de l'ion avec lesquelles il veut réaliser la simulation.

Une fois ce choix effectué, il faut déterminer le pouvoir d'arrêt de l'ion (dE/dx). Nous avons choisi de générer des tables de (dE/dx) pour les ions que nous souhaitions utiliser. Ces tables sont produites à partir des travaux de Ziegler et al (Ziegler 1978), (Ziegler 1980), (Ziegler, Biersack, et Littmark 1984) selon le programme SRIM version 2003. Le sous programme données-exp réalise l'ajustement mathématique ¹ des tables associées à la nature et à la vitesse de l'ion choisi. Le programme peut être commuté pour travailler avec une distribution radiale de dose identique à celle de Scholz et al. ou bien avec une distribution de dose plus complexe comme par exemple celle proposée par Waligorski et al (Waligorski, Hamm, et Katz 1986b). Dans un premier temps, on utilise la forme «simple» de la distribution radiale de dose. Comme nous l'avons présenté précédemment (voir paragraphe 5.3.1 p. 114), le «rayon d'action» R_{max} des ions est alors donné par :

$$R_{max} = 0,05 \times E_{part}^{1,7} \quad (6.1)$$

R_{max} étant exprimé en μm et E_{part} en MeV/u . Considérant le centre du noyau cellulaire comme point de référence, la zone d'influence de l'ion sur le noyau est un disque de rayon $R_{cell} + R_{max}$. Il faut donc tirer aléatoirement les particules dans cette zone. La dose physique, D , et le pouvoir d'arrêt, dE/dx , sont reliés entre eux par :

$$D = F \times dE/dx \times \frac{1}{\rho} \times K \times 10^{10} \quad (6.2)$$

avec :

- D en Gy,
- dE/dx en $keV/\mu m$,
- F la fluence ou nombre de particules par unité de surface exprimée en cm^{-2} ,
- $K = 1,602.10^{-19} J/eV$,
- ρ la masse volumique du tissu en $g.cm^{-3}$,

Cette formule nous fournit la fluence de particules et donne donc le nombre moyen de particules traversant la zone d'influence par :

$$N_{moy} = F \times Surf. = F \times \pi.(R_{cell} + R_{max})^2 \quad (6.3)$$

¹ajustement=fit

Les paramètres associés à la cible

- L'utilisateur doit fournir au système les caractéristiques selon la lignée cellulaire étudiée, c'est à dire le rayon moyen des noyaux cellulaires, les paramètres α , β et D_{seuil} de la courbe de survie cellulaire observée aux rayons X.
- L'utilisateur choisit également la pixélisation retenue pour l'étude. Cette pixélisation correspond à la dimension de la zone dans laquelle seront effectués les calculs de dose locale et ensuite le décompte d'événements létaux.

Les paramètres associés à la simulation Monté-Carlo

- L'utilisateur choisit le nombre de fois que le calcul sera répété (nombre de pulses).

En effet, les résultats des simulations, obtenus par méthode Monte-Carlo, sont bien entendu dépendants de la fluctuation statistique liée à ces méthodes. La précision du résultat va dépendre du nombre d'itérations sur lesquelles sont menées les calculs de survie. Plus grand sera le nombre d'itérations, plus grande sera la précision du résultat mais bien entendu plus long sera le calcul.

Tirage d'un pulse

Pour un pulse donné, le nombre de particules traversant la zone d'influence est une variable aléatoire suivant une loi de Poisson de paramètre N_{moy} . Pour chaque nouveau pulse d'ions, on tire le nombre moyen d'ions (N_{part}), contenu dans le pulse, selon cette loi.

On tire ensuite la position de chacun d'eux uniformément sur la zone d'influence. On stocke les coordonnées de chaque ion dans un tableau à deux dimensions.

Calcul de la dose dans chaque pixel du noyau cellulaire

Il s'agit d'intégrer la dose déposée dans le pixel pour en extraire la moyenne spatiale. Cette procédure est relativement complexe car il faut tenir compte, en deux dimensions :

- de la forme de la distribution radiale de dose,
- de la forme du noyau cellulaire (disque),
- de la forme carrée des pixels

Nous ne rentrerons pas ici, dans le détail du calcul. Nous retiendrons simplement la forme générale suivante :

$$D_{pixel} = \frac{1}{S_{pixel}} \cdot \int \int_{pixel} D(r) \cdot r \cdot dr \cdot d\theta \quad (6.4)$$

où $D(r)$ est la distribution radiale de dose. Cette étape est critique dans le programme car elle influe sur sa rapidité. En effet, le nombre de pixels à parcourir est très élevé (de l'ordre de 800 000 pour un noyau de $5 \mu m$ de rayon et des pixels de 10 nm de côté) donc le nombre d'intégration l'est également. Pour alléger le calcul, on tire partie de la décroissance en $(1/r^2)$ en effectuant pour des distances suffisamment grandes un développement limité de l'intégrale. Pour les distances réduites, on est obligé d'utiliser une

méthode plus générale en décomposant la distribution radiale de dose en un histogramme.

On remonte ensuite au nombre moyen d'événements létaux du pixel en considérant la dose D_{pixel} obtenue et à partir de la courbe de survie connue pour les rayons X, le tout ramené à la taille du pixel :

$$N_{letal, pixel} = \frac{S_{pixel}}{S_{noyau}} \times N_{letal(x)}(D_{pixel}) = \frac{1}{N_{pixel}} \times N_{letal_x}(D_{pixel}) \quad (6.5)$$

où : N_{pixel} est le nombre de pixel, $N_{letal(x)}(D_{pixel})$ est le nombre d'événements létaux que l'on obtient en R-X avec la dose D_{pixel} .

6.2.3 Taux de survie cellulaire de la cellule par pulse

Ayant simulé le passage des particules à proximité du noyau, on souhaite connaître la probabilité de survie de la cellule pour cette configuration d'irradiation (le pulse). Le nombre moyen d'événements létaux est un paramètre statistique caractérisant la variable aléatoire "nombre d'événements létaux". Cette variable aléatoire suit une loi de Poisson. Il s'agit du nombre moyen d'événements létaux exprimé sur l'ensemble du noyau cellulaire. Autrement dit pour obtenir ce nombre il est nécessaire de sommer sur l'ensemble des pixels, la contribution en événements létaux de chaque pixel. Le taux de survie de la cellule pour le pulse est alors la probabilité de n'avoir subi aucun événement létaux dans le noyau, c'est à dire :

$$S(D) = \exp^{(-N_{letal(noyau)})} \quad (6.6)$$

où $N_{letal(noyau)}$ est le nombre moyen d'événements létaux dans le noyau. On calcule également à titre de vérification la dose déposée dans le noyau en moyennant les doses déposées dans les pixels.

6.2.4 Traitement statistique des résultats

La simulation Monte-Carlo repose sur la répétition des tirages de pulses. Le programme retient cinq variables :

- le nombre de pulse,
- la somme des taux de survie,
- la somme des carrés des taux de survie,
- la somme des doses dans le noyau,
- la somme des carrés de ces doses.

Grâce à ces variables, on calcule la moyenne statistique et l'écart type des grandeurs taux de survie et dose. On évalue également la marge d'erreur statistique sur la valeur réelle de la grandeur dans le cadre du théorème central limite. On peut ainsi évaluer qu'il y a une probabilité de 95 % que le vrai résultat soit inclu dans l'intervalle suivant :

$$[< grandeur > - 1.96 \times \frac{\sigma_{grandeur}}{\sqrt{N}}, [< grandeur > + 1.96 \times \frac{\sigma_{grandeur}}{\sqrt{N}}] \quad (6.7)$$

où

- $\langle \text{grandeur} \rangle$ est la valeur moyenne calculée par la simulation,
- σ_{grandeur} est l'écart type estimé,
- n est le nombre de tirages (pulses).

On estime σ_{grandeur} par l'estimateur sans biais :

$$\sigma_{\text{grandeur}} = \sqrt{\left(\frac{\sum \text{grandeur}^2 \times \sum \text{grandeur} \cdot \frac{\sum \text{grandeur}}{n}}{n-1} \right)} \quad (6.8)$$

$$\sigma_{\text{grandeur}} = \sqrt{\left(\frac{n}{n-1} \right) \left(\frac{\sum \text{grandeur}^2}{n} - \left(\frac{1}{n} \sum \text{grandeur} \right)^2 \right)} \quad (6.9)$$

$$\sigma_{\text{grandeur}} = \sqrt{\left(\sum \text{grandeur}^2 - \frac{1}{n} \left(\sum \text{grandeur} \right)^2 \right) / (n-1)} \quad (6.10)$$

L'incertitude sera simplement définie comme $\sigma_{\text{grandeur}}/\sqrt{n}$, et l'incertitude relative comme le rapport de cette incertitude sur la grandeur moyenne. L'incertitude relative est exprimée en pourcentage. La probabilité que la vraie valeur soit dans l'intervalle défini par cette incertitude est ainsi de 68 %. Le programme retourne la dose moyenne pour information. Cette dose doit être égale à la dose définie comme paramètre d'entrée à l'incertitude statistique près. C'est un premier indice du bon fonctionnement de la simulation. On effectue d'autres calculs de grandeurs à la fin de la simulation comme par exemple le nombre moyen d'événements létaux qui s'exprime comme :

$$N_{\text{letal}} = -\ln(\langle \text{Survie} \rangle) \quad (6.11)$$

Aux très petites doses, en divisant N_{letal} par la dose on obtient la pente à l'origine de la dépendance en dose de N_{letal} . Cette dernière grandeur, notée α , représente la section efficace aux faibles doses à un facteur multiplicatif près.

6.2.5 Les principales difficultés

Vis-à-vis du modèle *L.E.M.* de Scholz et al., l'introduction, de cette pixélisation ajoute évidemment une complexité. Il s'agit de calculer rapidement la dose moyenne déposée dans un pixel. Si ce processus semble une intégration simple, le fait de vouloir obtenir un temps de calcul raisonnable a impliqué une stratégie d'optimisation. Selon la nature et la vitesse de l'ion ainsi que sa distance par rapport au pixel considéré, nous avons décomposé le calcul en deux catégories :

- Le cas général : Il s'agit d'intégrer entre la distance minimale et la distance maximale qui sépare l'ion du pixel, la dose dans le pixel. Cette dose est ensuite renormalisée à la surface du pixel. Profitant de la symétrie cylindrique de la dose radiale, cette intégration qui doit normalement se faire en deux dimensions se ramène à une intégration simple de portion de couronne (multiples cas de figures possibles).

- L’approximation par développement asymptotique : le cas général, même optimisé est gourmand en temps de calcul. Dans les cas où l’ion est assez loin du pixel (le cas le plus fréquent), un développement limité permet d’estimer par intégration analytique la dose moyenne dans le pixel. Insistons sur le fait qu’un critère rigoureux permet de justifier de l’utilisation du premier ou du deuxième cas.

En dépit de ces optimisations les calculs sont faisables seulement si dose et vitesse de l’ion restent petits. Pour les grandes vitesses, nous avons dû effectuer d’autres approximations numériques telles que le développement asymptotique des doses et événements létaux sur la taille du noyau pour des très grandes distances ions-noyaux. Là encore, un critère défini numériquement permet de considérer un noyau ponctuel en regard de la distance le séparant de l’ion. Dans ce cas là, aucune intégration numérique n’est nécessaire, si ce n’est que la sommation sur le nombre d’ions qui constituent un pulse. Enfin, pour gagner davantage de temps, dans le cas où ce nombre d’ions par pulse est très élevé, cette somme est remplacée par le passage à la limite.

6.2.6 Validation des procédures

Au fur et à mesure de la réalisation du code de simulation, nous avons procédé à la validation des principales procédures développées. Nous ne détaillerons pas ici ces méthodes de validation mais il est intéressant de noter que nous avons également confronté nos résultats de simulations, dans le cas d’une petite taille de pixel (10 nm), par rapport à ceux présentés par Scholz et al. (Scholz, Kellerer, Kraft-Weyrather, et Kraft 1997). Nous présentons dans le tableau 6.1 les résultats obtenus en considérant des cellules ovariennes de hamster chinois (CHO) de paramètres identiques à ceux de Scholz et al c’est à dire :

- $\alpha = 0.18$
- $\beta = 0.028$
- $D_{seuil} = 30 \text{ Gy}$
- $R_{noyau} = 5\mu m$.

TAB. 6.1 – Taux de survie pour plusieurs doses d’irradiation aux ions carbone de 11 MeV/u. Taille de pixel de 10 nm

Dose demandée	0,1 Gy	0,5 Gy	1 Gy	2 Gy	3 Gy	4 Gy
Dose calculée	0,0995 Gy	0,502 Gy	1,00 Gy	2,00 Gy	3,01 Gy	4,00 Gy
Incertitude relative Dose	0,6 %	0,7 %	0,6 %	0,6 %	0,6 %	0,6 %
Taux de survie	91,4 %	63,7 %	40,6 %	16 %	6,6 %	2,7 %
Incertitude relative Taux de survie	0,05 %	0,3 %	0,6 %	2 %	2 %	4 %

La figure 6.1 présente les résultats obtenus avec le modèle de Scholz (b) et avec notre modèle (a) pour des ions carbone de 11 MeV/u. On ne remarque pas de différence majeure entre les deux courbes de survie. De plus, la pente à l'origine calculée pour le nombre d'événements létaux : $-\ln(S(D))$ est $\alpha = 0,89 \pm 0,01 \text{ Gy}^{-1}$ avec notre modèle. Pour la même énergie, la valeur de la pente initiale α donnée par cette publication est d'environ $0,9 \text{ Gy}^{-1}$.

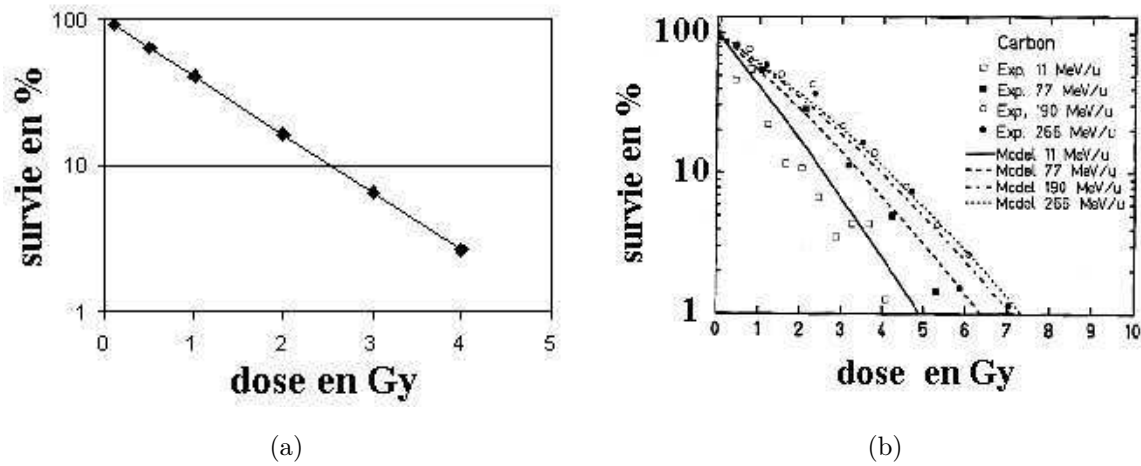


FIG. 6.1 – Taux de survie de cellules CHO exposées à des ions carbone de 11 MeV/u . (a) notre simulation, (b) résultats de Scholz et al. (Scholz, Kellerer, Kraft-Weyrather, et Kraft 1997)

6.3 Etude du modèle *L.E.M.* : Aspects théoriques

Le *L.E.M.* est un modèle de prédiction relativement complexe dans lequel interviennent de nombreux paramètres. En particulier, nous montrerons dans la partie expérimentale que certains paramètres sont difficilement accessibles. C'est le cas du paramètre D_{seuil} . La figure 6.2 illustre plusieurs courbes de survie, avec les mêmes paramètres α et β mais avec une dose seuil variable.

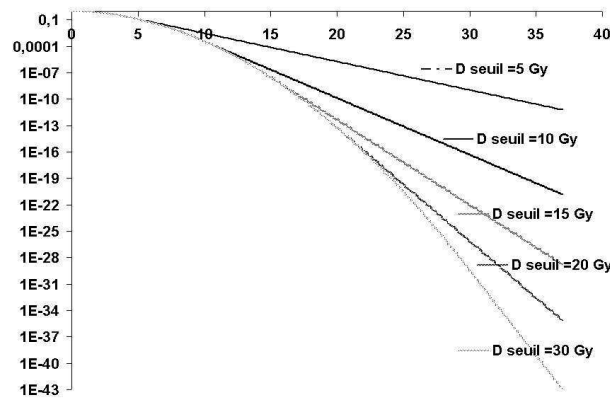


FIG. 6.2 – Courbes de survie avec les mêmes paramètres α et β et pour différentes D_{seuil} .

Nous constatons qu'avec les mêmes paramètres α et β et une D_{seuil} variable, la forme de la courbe de survie se trouve complètement modifiée. La survie pour une dose élevée dépend directement et très fortement de D_{seuil} . Il est, dans ces conditions, très périlleux de déterminer un nombre d'événements létaux² correspondant à des doses locales bien supérieure à D_{seuil} . Autrement dit cette figure justifie le besoin d'étudier l'influence de ce paramètre sur les prédictions de *L.E.M.*.

Dans le but de définir les domaines d'influences de chacun des paramètres et d'évaluer leur importance relative nous pouvons, en première approximation, extraire les grandes tendances à partir d'une approximation analytique.

6.3.1 Quelques tendances déduites d'une approximation analytique

Effet de la taille du noyau cellulaire

Prenons le cas extrême où l'ion est très lent. Alors la distribution de dose radiale autour de la trajectoire de l'ion représentée par la figure 6.3 peut être approchée par une fonction constante de 0 à r_{max} (ou r_{max} serait très voisin de r_{min}).

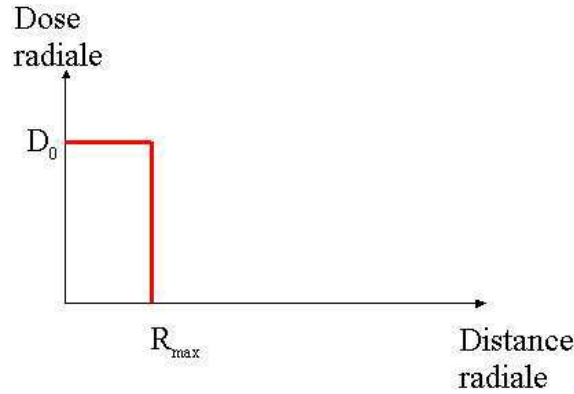


FIG. 6.3 – Distribution de dose radiale simplifiée dans le cas des ions de très faibles vitesses.

Dans ce cas,

$$D_0 \cdot \pi \cdot R_{max}^2 = \frac{dE}{dx} \quad (6.12)$$

Comme le montrent les figures 6.3 et 6.4, en négligeant les effets de bords on peut considérer que :

- l'ion ne dépose de l'énergie dans le noyau que s'il le frappe directement.
- La dose est D_0 sur une surface $\pi \cdot R_{max}^2$

Dans ce cas particulier, **et pour les faibles fluences**, la survie s'exprime de la manière suivante :

$$Survie = p(\text{impact}) \times Survie_{\text{impact}} + p(\text{non impact}) \times Survie_{\text{non impact}} \quad (6.13)$$

où $p(\text{impact})$ et $p(\text{non impact})$ sont respectivement les probabilités qu'il y ait un impact ou au contraire pas d'impact dans le noyau.

² $N_{letal} = -\text{Ln}(\text{Survie})$

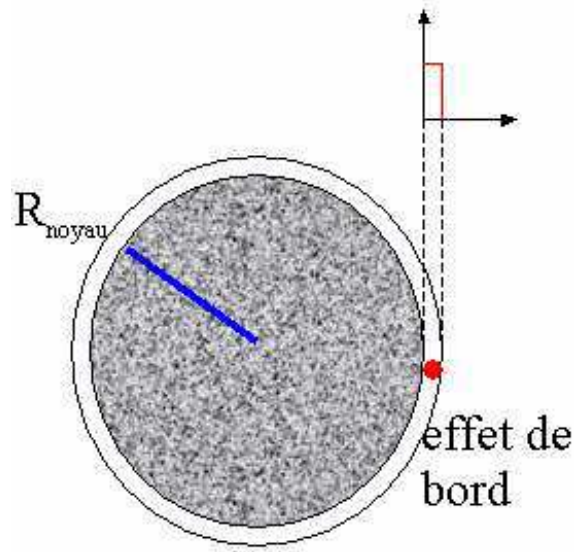


FIG. 6.4 – Noyau cellulaire(en grisé) et distribution de dose radiale simplifiée. Si on néglige l'effet de bord et si l'ion survient en dehors du noyau cellulaire, sa contribution en dose est nulle

Avec :

$$Survie_{non\ impact} = 1 \quad (6.14)$$

et

$$p(non\ impact) = 1 - p(impact) \quad (6.15)$$

La probabilité d'avoir un seul impact dans le noyau est donnée, à fluence faible, par :

$$p(impact) = Fluence \times \pi \times R_n^2 = \frac{D_{ion}}{\frac{dE}{dx}} \times \pi \times R_n^2 \quad (6.16)$$

La survie correspondant à un impact est :

$$S_{impact} = \exp \left(\pi \times R_n^2 \times \frac{\ln(S_x(D_0))}{\pi \times R_n^2} \right) \quad (6.17)$$

Posons :

$$A_n = \frac{\pi \times R_{max}^2}{\pi \times R_n^2} \quad (6.18)$$

Alors :

$$S_{impact} = \exp \left(A_n \times \ln \left(S_x \left(\frac{\frac{dE}{dx}}{\pi \times R_{max}^2} \right) \right) \right) \quad (6.19)$$

Finalement, la survie moyenne pour une dose D_{ion} est :

$$S(D_{ion}) = 1 - D_{ion} \left(\frac{1 - \exp \left(A_n \times \ln \left(S_x \left(\frac{\frac{dE}{dx}}{\pi \times R_{max}^2} \right) \right) \right)}{\frac{\frac{dE}{dx}}{\pi \times R_n^2}} \right) \quad (6.20)$$

Étudions deux cas extrêmes :

1. Hypothèse d'un *T.E.L.* très faible :

On peut alors effectuer le developpement limite pour $\frac{dE}{dx} \rightarrow 0$, soit ;

$$S(D_{ion}) = 1 - D_{ion} \left(\frac{\frac{\pi \times R_{max}^2}{\pi \times R_n^2} \times \alpha \times \frac{\frac{dE}{dx}}{\pi \times R_{max}^2}}{\frac{\frac{dE}{dx}}{\pi \times R_n^2}} \right) = 1 - \alpha \times D_{ion} \quad (6.21)$$

Finalement, on retrouve dans ce cas approché des faibles vitesses, des faibles *T.E.L.* et à basse fluence une survie identique à celle des R_X . En effet, à faible dose l'exponentielle :

$$\exp^{-\alpha \times D} \quad (6.22)$$

tend vers

$$1 - \alpha \times D \quad (6.23)$$

Le rayon du noyau cellulaire ne joue aucun rôle.

2. Hypothèse d'un *T.E.L.* très fort :

On peut alors effectuer le developpement limite pour $\frac{dE}{dx} \rightarrow \infty$, soit ;

$$S(D_{ion}) = 1 - D_{ion} \left(\frac{1 - 0}{\frac{\frac{dE}{dx}}{\pi \times R_n^2}} \right) = 1 - \alpha_{ion} \times D_{ion} \quad (6.24)$$

avec

$$\alpha_{ion} = \frac{\pi \times R_n^2}{\frac{dE}{dx}} \quad (6.25)$$

On remarque que dans le cas des faibles vitesses et des forts *T.E.L.* , la survie est proportionnelle à la surface du noyau cellulaire. Dans ce cas particulier, R_n devient un paramètre critique.

6.3.2 Influence de D_{seuil}

Si nous considérons encore notre distribution de dose simplifiée (cf figure 6.3), nous pouvons calculer la pente α_{ion} de la courbe de survie aux ions, en fait de $(-\ln S(D))$ selon :

$$\alpha_{ion} = \frac{\pi R_n^2}{\frac{dE}{dx}} \times (1 - \exp(-\ln(S(D_0)))) \quad (6.26)$$

D'un point de vue analytique, la sensibilité de α_{ion} avec D_{seuil} peut être déduite de l'étude de $\frac{d\alpha_{ion}}{dD_{seuil}}$. soit encore :

$$\frac{d\alpha_{ion}}{dD_{seuil}} = \frac{d(\ln(S))}{dD_{seuil}} \times \exp(-\ln(S(D_0))) \quad (6.27)$$

Deux cas seront envisagés :

- Si D_0 est inférieur à D_{seuil} alors la survie ne dépend pas de D_{seuil} . D_{seuil} doit être un paramètre qui n'influence pas la survie.
- Si D_0 est supérieur à D_{seuil} alors

$$-\ln(S_D) = (\alpha + 2 \times \beta \times D_{seuil})(D - D_{seuil}) + \alpha \times D_{seuil} + \beta D_{seuil}^2 \quad (6.28)$$

soit finalement :

$$\frac{d\alpha_{ion}}{dD_{seuil}} = (2 \times \beta(D_{seuil} - D_0)) \times \exp(-\ln(S(D_0))) \quad (6.29)$$

Par ailleurs nous savons qu'en première approximation le pouvoir d'arrêt (dE/dx), et donc D_0 , sont proportionnels au carré de la charge Z_p du projectile à la même vitesse.

Donc finalement,

- Pour les Z_p faible, D_0 va tendre vers des doses inférieures à D_{seuil} . Nous nous attendons donc à peu ou pas d'influence de D_{seuil} .
- Lorsque Z_p augmente, D_0 croît et l'effet de D_{seuil} augmente également.
- Pour les Z_p très élevés, l'effet de D_{seuil} doit diminuer car $\exp(-\ln(S(D_0)))$ tend vers zéro.

Lorsque la dose en coeur de trace est supérieure à D_{seuil} , la détermination expérimentale de D_{seuil} doit conditionner, en partie, la prédictibilité du modèle. Ce point devra être confirmé par des simulations à l'aide du modèle *L.E.M.*.

6.4 Paramètres influant la formation locale d'événements létaux

6.4.1 Introduction : Définition de quelques grandeurs

Dans le paragraphe précédent nous avons extrait des tendances grâce à des expressions analytiques. Cependant, ces tendances sont limitées au cas des ions de faibles vitesses. Pour étendre cette limite sans pour autant se placer dans le cadre complet du *L.E.M.* (qui ne peut se faire qu'à travers un grand nombre de résultats de simulations), il nous a semblé intéressant et surtout plus simple de nous attarder sur les contributions "locales" en dose et en événements létaux d'une irradiation avec un seul ion (limite des faibles fluences). Cette étude nous permet également de mieux appréhender les effets des différents paramètres du *L.E.M.*. Comme le montre la figure 6.5, il s'agit de considérer :

- un pixel de coordonnées $X_p=0$ et $Y_p=0$,
- un ion, d'ordonnée $Y_i=0$ et d'abscisse variant de 0 à r_{max} . r_{max} étant la portée maximale du dépôt de dose radiale.

Nous avons défini (voir paragraphe 1.3.4 p. 26 et voir figure 5.3 p. 115) la distribution radiale de dose autour de la trajectoire d'un ion. Dans notre pixel, nous allons calculer la dose moyenne et le nombre moyen d'événements létaux en fonction de la position de l'ion et ce, pour différents paramètres.

Nous rappelons les notations qui seront utilisées par la suite :

- r_{max} : parcours maximal des électrons mis en mouvement autour de la trajectoire d'un ion. Au delà de r_{max} la dose radiale $D(r) = 0$.
- α : paramètre déterminé expérimentalement lors de la réalisation des courbes de survie au R-X. α est relié à la probabilité, qu'à faible dose, un seul photon entraîne au moins un événement létaux.
- β : paramètre déterminé expérimentalement lors de la réalisation des courbes de survie au R-X. β est relié à la probabilité, qu'à forte dose, l'action de deux photons produit au moins un événement

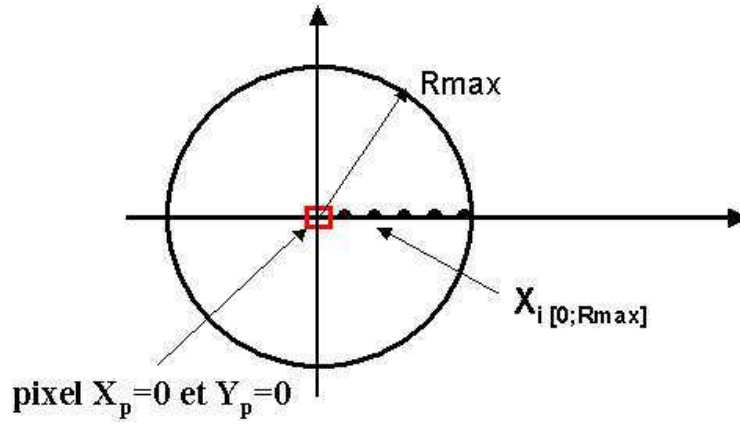


FIG. 6.5 – Schéma de principe de l'étude restreinte à un seul pixel. La position de l'ion est limitée à l'axe des abscisses

létal.

- D_{seuil} : paramètre déterminé expérimentalement lors de la réalisation des courbes de survie au R-X. D_{seuil} représente la dose seuil au delà de laquelle la courbe de survie au R-X (voir équation 6.36 p. 139) est approchée par une forme purement exponentielle (voir équation 6.37 p. 139).
- $N_{létal}$: Il s'agit du nombre d'événements létaux créés dans le noyau cellulaire suite à une irradiation homogène.
- $d_{el}(r)$: Il s'agit de la densité locale des événements létaux à une distance r .
- R_n : paramètre déterminé expérimentalement représentant le rayon du noyau cellulaire.
- paramètre d'impact : c'est la distance qui sépare le centre du pixel et l'ion.

La dose étant dans le modèle *L.E.M.* la source de création des événements létaux, il est intéressant de s'attarder sur l'évolution de la dose en fonction du paramètre d'impact. La figure 6.6 représente la dose moyenne dans un pixel de $1nm \times 1nm$ pour un proton, un ion carbone et un ion argon d'énergie $1 MeV/u$ en fonction du paramètre d'impact. Ainsi, lorsque l'ion arrive à une distance r du pixel, la dose moyenne calculée dans le pixel est $D_{pixel}(r)$.

De plus, si nous adoptons l'approximation que la dose déposée, ou encore le transfert d'énergie linéique, sont proportionnels au carré de la charge effective de la particule incidente alors nous sommes capables de représenter, en première approximation et pour une vitesse d'ion donnée, l'ensemble des particules à partir de la distribution de dose $\overline{D_{pixel}(r)}$ de l'une d'entre elle. On notera clairement, sur la figure 6.6, l'importance de la charge du projectile sur la dose en coeur de trace.

Cependant, définir la dose dans le pixel pour différents paramètres d'impact d'ion ne suffit pas. En effet, sur la figure 6.6 on observe clairement que les ions de faibles paramètres d'impact déposent une forte dose dans le pixel. Mais sur le plan statistique, ces petits paramètres d'impacts sont peu probables.

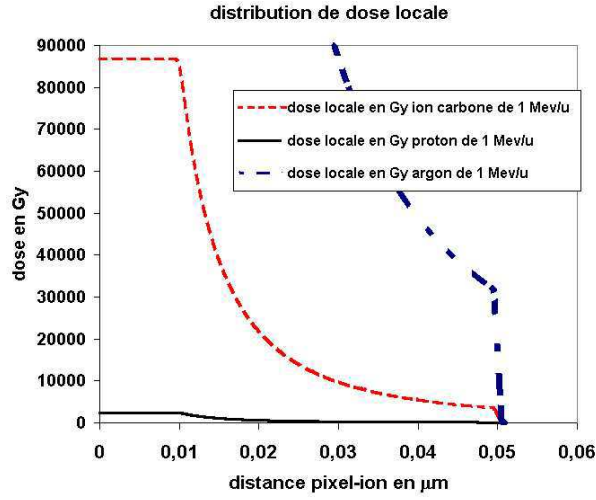


FIG. 6.6 – Dose moyenne exprimée en Gy dans un pixel en fonction du paramètre d'impact. Cas d'un proton, d'un ion carbone et d'un ion argon de 1 MeV/u

Au contraire, les ions de grands paramètres d'impact déposent peu de dose dans le pixel (voir figure 6.6) mais sont très nombreux. Cette remarque pour le pixel peut s'étendre au cas du noyau cellulaire. Il nous faut donc définir une quantité plus appropriée. Nous appellerons “dose pondérée” la dose déposée par un ion de paramètre d'impact donnée multipliée par la densité de probabilité que la trajectoire de l'ion se fasse effectivement avec ce paramètre d'impact.

La probabilité d'impact à une distance r , à dr près, s'exprime par le rapport :

$$\frac{2 \times \pi \times r \times dr}{\pi \times r_{max}^2} \quad (6.30)$$

Cette expression n'est autre que le rapport de la surface de la couronne de rayon r et d'épaisseur dr sur la surface totale sur laquelle un ion peut contribuer à la dose. La couronne représente tous les ions caractérisés par un impact à une distance comprise entre r et $r + dr$. Le disque de rayon r_{max} représente tous les ions qui peuvent contribuer, statistiquement, en dose à ce pixel. Le graphique (a) de la figure 6.7 présente un exemple de distribution de dose générée par des ions carbone de vitesse 30 MeV/u en fonction de la distance séparant le pixel de l'ion. La dimension du pixel est de $1nm \times 1nm$. On distingue :

- le coeur de trace ($r \leq r_{min} = 10 nm$) à l'intérieur duquel la dose est considérée comme constante et vaut D_0 ,
- la décroissance de la dose radiale en $\frac{1}{r^2}$ de r_{min} à r_{max} .
- r_{max} est la distance radiale au delà de laquelle la dose radiale vaut 0 (i.e. parcours maximal des électrons).

On peut noter que l'intégrale de la fonction “dose pondérée” de 0 à $+\infty$ qui vaut :

$$\frac{2 \cdot \pi}{\pi \cdot r_{max}^2} \cdot \int_0^{r_{max} + \sqrt{\Delta x^2 + \Delta y^2}} D_{pixel}(r) r dr \quad (6.31)$$

est en bonne approximation égale à

$$\frac{2 \cdot \pi}{\pi \cdot r_{max}^2} \cdot \int_0^{r_{max}} \overline{D_{pixel}(r)} r dr \quad (6.32)$$

lorsque le pixel reste raisonnablement petit par rapport à r_{max} . On peut démontrer que cette intégrale est égale à :

$$\frac{T.E.L}{\pi \cdot r_{max}^2} \quad (6.33)$$

C'est à dire la dose moyenne reçue par un pixel du fait de l'irradiation de ce pixel par un ion répartie sur une surface $\pi \cdot r_{max}^2$.

Le graphique (b) de la figure 6.7 représente quant à lui la dose pondérée pour des impacts de 0 à r_{max} . On notera que statistiquement, les paramètres d'impacts en dessous de $10nm$ contribuent peu à la dose.

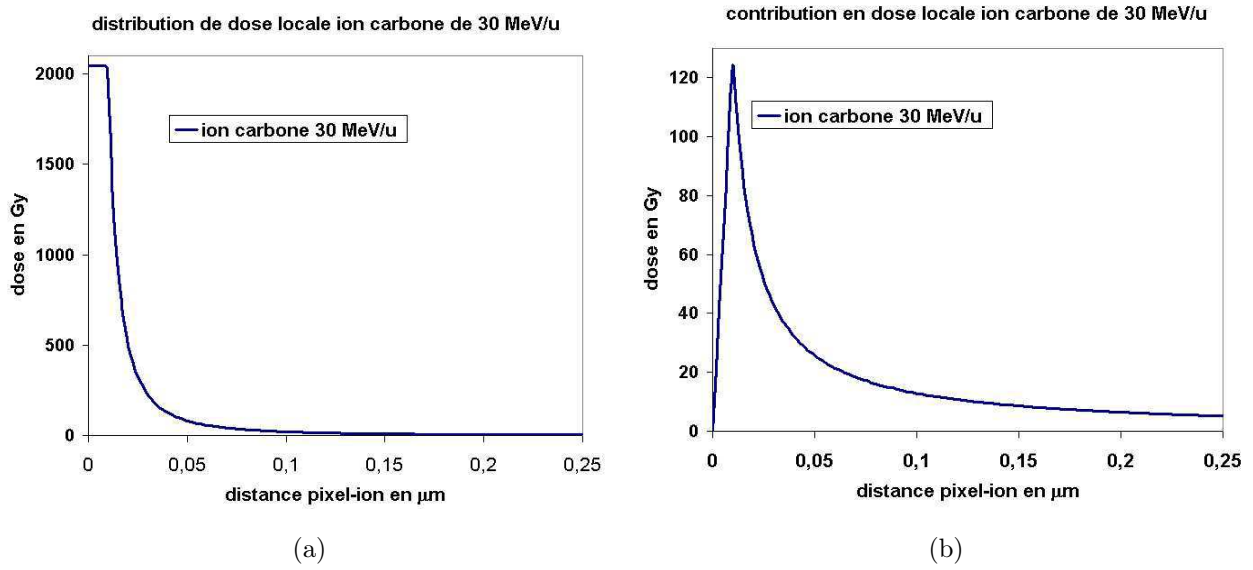


FIG. 6.7 – (a) Distribution de dose locale en Gy dans un pixel et (b) dose pondérée en $Gy \times \mu m^2$. Cas d'un ion carbone de 30 MeV/u

Comme nous l'avons vu précédemment (voir paragraphe 5.3.1 p. 110), le nombre d'événements létaux survenant dans la cellule, lors d'une irradiation homogène au $R - X$, est directement relié à la dose dans le noyau cellulaire par les relations :

– Si $D(r) \leq D_{seuil}$ alors :

$$N_{léta} = \alpha \times D(r) + \beta \times D(r)^2 \quad (6.34)$$

– Si $D(r) > D_{seuil}$ alors :

$$N_{léta} = \alpha \times D_{seuil} + \beta \times D_{seuil}^2 + (\alpha + 2\beta \times D_{seuil}) \times (D(r) - D_{seuil}) \quad (6.35)$$

Dans le *L.E.M.*, le nombre d'événements létaux n'intervient pas directement mais la grandeur caractéristique est la densité locale en un point r , notée $d_{el}(r)$, des événements létaux. Cette densité s'exprime simplement par le rapport $\frac{N_{léta}}{\pi \times R_n^2}$, soit :

– Si $D(r) \leq D_{seuil}$ alors :

$$d_{el}(r) = \frac{\alpha \times D(r) + \beta \times D(r)^2}{\pi \times R_n^2} \quad (6.36)$$

– Si $D(r) > D_{seuil}$ alors :

$$d_{el}(r) = \frac{\alpha \times D_{seuil} + \beta \times D_{seuil}^2 + (\alpha + 2\beta \times D_{seuil}) \times (D(r) - D_{seuil})}{\pi \times R_n^2} \quad (6.37)$$

Dans le cas où l'on considère la notion de pixel (voir paragraphe 6.1.1 p. 123) il faut substituer la dose radiale $D(r)$ par la dose moyenne sur le pixel $\overline{D_{pixel}(r)}$. Autrement dit il faut considérer la densité d'événements létaux en un point r associée à la dose sur le pixel. Cette fonction étant dépendante de r , on peut, comme précédemment pour la dose, représenter cette densité d'événements létaux en fonction du paramètre d'impact. C'est ce que nous représentons par la figure 6.8 (a).

De la même façon que nous avons défini la “dose pondérée” en fonction du paramètre d'impact, il est tout aussi pertinent de définir la courbe de “densité d'événements létaux pondérée” en fonction du paramètre d'impact. La figure 6.8 (b) représente la “ $d_{el}(r)$ pondérée” en fonction du paramètre d'impact pour des ions carbone de 30 MeV/u .

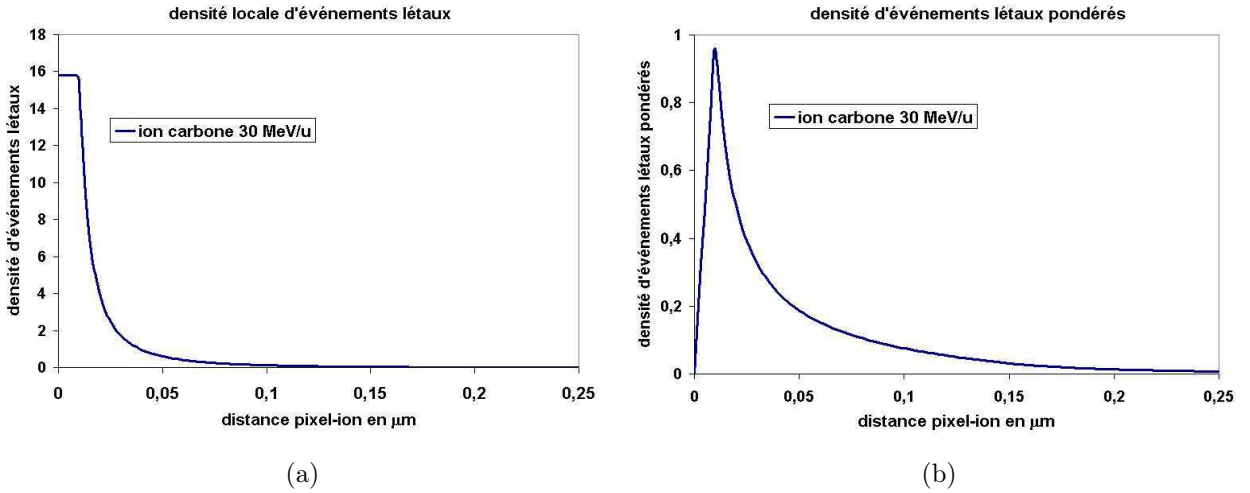


FIG. 6.8 – En fonction du paramètre d'impact, on représente en (a) la densité d'événements létaux et en (b) la densité d'événements létaux pondérée dans un pixel. Cas d'un ion carbone de 30 MeV/u

6.4.2 Discussion de la notion de localité

Notre étude de la contribution en dose et en événements létaux d'un seul ion sur une zone limitée (ou “locale”) nous permet d'effectuer une première évaluation de la notion de localité des événements létaux que nous avons introduit dans notre simulation et discuté précédemment (voir 6.1.1 p. 123). Rappelons que cette notion de “résolution” est introduite par la définition de pixel.

L'idée est ici d'étudier l'influence de la taille du pixel, sur la contribution d'un ion, en dose et en densité

d'événements létaux, sur ce pixel. L'objectif est d'essayer de prévoir, quelle va être le domaine où l'effet du pixel sera maximal.

La figure 6.9 (b) représente les contributions en dose locale, pour des ions carbone de 30 MeV/u , calculées pour 4 tailles de pixel : $1\text{nm} \times 1\text{nm}$, $10\text{nm} \times 10\text{nm}$, $30\text{nm} \times 30\text{nm}$, $50\text{nm} \times 50\text{nm}$ et $500\text{nm} \times 500\text{nm}$. Nous observons que les contributions en dose pour les pixels de $1\text{nm} \times 1\text{nm}$ et $10\text{nm} \times 10\text{nm}$ sont très proches. On note que le coeur de trace est défini quel que soit la nature et la vitesse de la particule par un cylindre de rayon 10 nm (figure 6.6 et 6.7 (a)). De ce fait la distribution en dose locale des ions de 0 à r_{max} est assez bien représentée par des pixels jusqu'à $10\text{nm} \times 10\text{nm}$ (cf figure 6.9 (a)). Pour des pixels plus grands, la dose locale sur le pixel devient une dose moyenne $\overline{D_{pixel}(r)}$ assez grossière qui étale la distribution de dose originale $D(r)$.

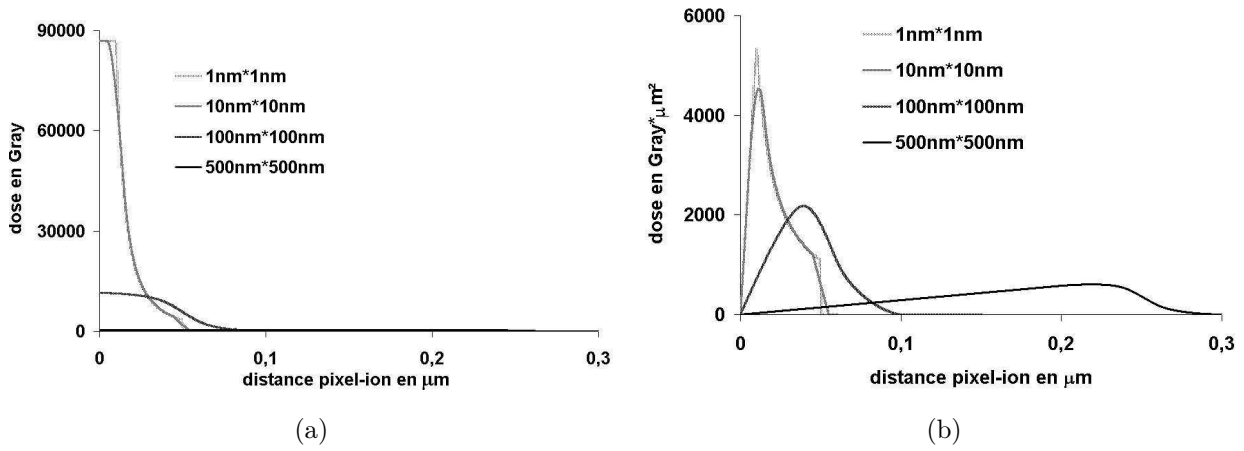


FIG. 6.9 – effet de la pixélisation sur la distribution de dose locale et sur la contribution en dose locale. (a) distribution de dose locale pour un ion carbone de 1 MeV/u et (b) contribution en dose locale pour un ion carbone de 1 MeV/u

En première approximation, l'influence de la pixélisation sur la contribution en événements létaux peut être déduite de l'étude des expressions analytiques. Nous pouvons ainsi définir trois domaines en fonction de la charge z_p de la particule (et donc de la dose locale).

- pour les z_p faibles, la dose déposée sera faible et donc en première approximation, dans le domaine de contribution à la mort cellulaire, le nombre d'événements létaux pour une dose D , c'est à dire $N_{letal}(D)$, sera proche de $\alpha \times D$. Donc, quelque soit la taille du pixel choisie, nous avons :

$$d_{el}(r)^{total} = \frac{\alpha}{\pi \times R_n^2} \times \int_0^{r_{max}} D(r) \eta(r) 2\pi r dr \quad (6.38)$$

avec $\eta(r)$ la fonction "pixel"

$$\eta(r) = \frac{\overline{D_{pixel}(r)}}{D(r)_{ponctuel}} \quad (6.39)$$

$\eta(r)$ caractérise l'effet du pixel. Lorsque la taille du pixel tend vers zéro alors $\eta(r)$ tend vers 1.

or, nous avons démontré précédemment qu'en bonne approximation,

$$\int_0^{r_{max}} 2\pi r dr \times \overline{D_{pixel}(r)} = \frac{dE}{dx} \quad (6.40)$$

Donc pour z_p suffisamment faible, c'est à dire $D_{pixel}(r)$ suffisamment faible alors la densité d'événements létaux, $d_{el}(r)$, ne dépend pas ou peu de la pixélisation

- Lorsque z_p augmente ($D_{pixel}(r)$ augmente aussi), la densité d'événements létaux s'exprime selon :

$$d_{el}(r) = \frac{\alpha \times D_{pixel}(r) + \beta \times D_{pixel}(r)^2}{\pi R_n^2} \quad (6.41)$$

avec $\beta D(r)^2$ non négligeable devant $\alpha D(r)$. Dans ce cas,

$$d_{el}(r)^{total} = \frac{\alpha}{\pi R_n^2} \times \int_0^{r_{max}} D(r)\eta(r) \times 2 \times \pi r dr + \beta \int_0^{r_{max}} D^2(r)\eta^2(r) \times 2 \times \pi r dr \quad (6.42)$$

Nous constatons la présence d'un terme $\eta^2(r)$ signifiant le rôle de la pixélisation sur la contribution à la mort cellulaire.

- Lorsque z devient grand (donc D supérieur à D_{seuil}), la densité d'événements létaux s'exprime :

$$d_{el}(r) = \frac{(\alpha + 2\beta \times D_{seuil})(D(r) - D_{seuil}) + A \times D_{seuil}}{\pi R_n^2} \quad (6.43)$$

On retrouve le cas des z_p faibles où l'intégrale de $D(r)\eta(r)2 \times \pi \times r \times dr$ donne, en très bonne approximation, le $T.E.L.$ quelque soit le pixel.

On note dans le cas intermédiaire que pour un effet maximal du pixel il faut que $\eta(r)$ diffère de 1 dans l'intervalle de r où $D^2(r)$ contribue le plus à l'intégrale.

Les figures 6.10, 6.11 et 6.12 représentent :

- en ordonnée le rapport des densités d'événements létaux pondérés ($d_{el}(r)$ pondérés) calculés avec des pixels de $10nm \times 10nm$, $100nm \times 100nm$ ou encore $500nm \times 500nm$ sur cette même quantité calculée avec la pixélisation la plus fine ($1nm \times 1nm$), c'est à dire l'hypothèse de la dose quasi-ponctuelle.
- en abscisse la charge z_p de l'ion considéré. Pour cette étude on se permet de définir des charges inférieures à 1. On constate, en accord avec les équations 6.38, 6.41 et 6.43 que l'écart sur les densités moyennes d'événements létaux pondérés est minimal pour les z très faibles où très grand. Cet écart passe par un maximum lorsque z est voisin de 1 pour une vitesse de $10 MeV/u$ par exemple.

Autrement dit, cette courbe indique pour chaque vitesse, quelle charge de projectile donnera une sensibilité maximale à la pixélisation. Comme le montrent les figures 6.10, 6.11 et 6.12 la position, en fonction de la charge z_p , et l'amplitude du maximum dépendent de la vitesse du projectile. Bien entendu plus la taille du pixel est grande et plus l'effet du pixel est important. En conclusion on retiendra que l'effet du pixel est maximal pour les charges de projectile faibles. Cet effet diminue lorsque la vitesse augmente. Pour des pixels de taille raisonnable, et avec des ions plus lourds que l'hydrogène la pixélisation ne semble pas modifier considérablement le résultat des simulations.

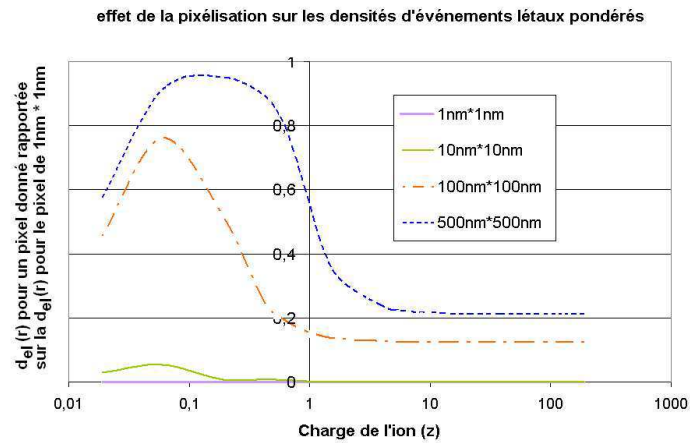


FIG. 6.10 – effet de la dimension du pixel, sur la densité d'événements létaux pondérée, en fonction de la charge des ions. Cas des ions de 1 MeV/u

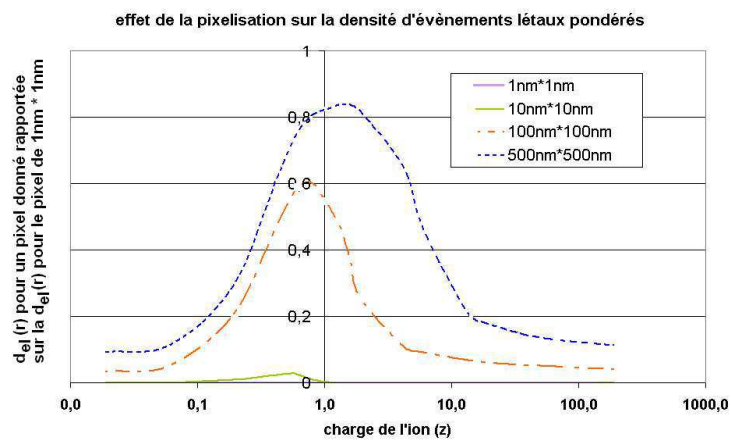


FIG. 6.11 – effet de la dimension du pixel, sur la densité d'événements létaux pondérée, en fonction de la charge des ions. Cas des ions de 10 MeV/u

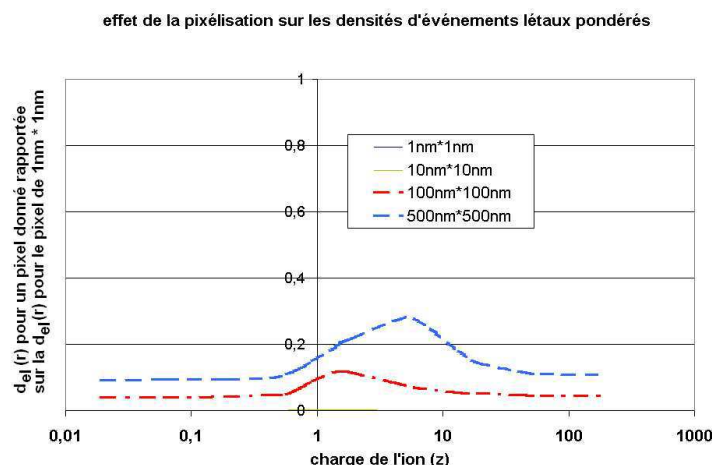


FIG. 6.12 – effet de la dimension du pixel, sur la densité d'événements létaux pondérée, en fonction de la charge des ions. Cas des ions de 200 MeV/u

6.4.3 Evènements létaux et paramètre d'impact

La figure 6.13 représente la dose pondérée par un proton d'énergie 200 MeV/u et pour deux dimensions de pixel retenues en fonction de la distance r séparant le pixel de l'ion. Une attention particulière est accordée aux paramètres d'impacts inférieurs à 100 nm du pixel (aire hachurée) dans le cas du pixel de $1\text{nm} \times 1\text{nm}$.

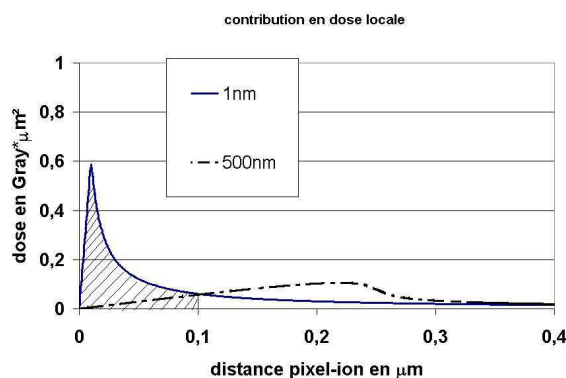


FIG. 6.13 – Dose pondérée dans un pixel en fonction de la distance ion-pixel. Contribution en dose radiale exprimée en $\text{Gy} \times \mu\text{m}^2$ pour un proton de 200 MeV/u et un pixel de taille 1 nm ou 500 nm

Les tableaux 6.2 à 6.16, résument la contribution en dose pondérée pour différents paramètres d'impacts obtenus pour des protons, des ions carbone et des ions argon d'énergie $1, 10, 30, 50, 200\text{ MeV/u}$. L'ensemble des résultats concerne la pixélisation de $1\text{nm} \times 1\text{nm}$. Ces résultats sont exprimés en pourcentage par rapport à la contribution totale sur l'ensemble des paramètres d'impacts ayant une contribution non nulle. Prenons l'exemple du tableau concernant le cas d'un proton de 1 MeV/u . La ligne " $D_{seuil} = 10\text{Gy}$ " nous indique que 99% de la dose pondérée est délivrée pour une dose $D > D_{seuil}$. La ligne " $r_{limite} = 0.01$ "

μm ” nous indique que 24% de la dose pondérée est délivrée pour des distances $r < 10$ nm de la trajectoire de l’ion. La colonne correspondant aux fraction de densité d’événements létaux pondérés nous indique par exemple que, toujours pour notre proton de 1 MeV/u , les 24% de la dose pondérée délivrée pour des distances $r < 10$ nm de la trajectoire de l’ion sont “responsables” de 24% des événements létaux pondérés. Ces résultats nous permettent d’extraire les analyses suivantes :

Cas des ions Carbone :

Cas extrême des vitesses très faibles : Aux très basses vitesses, la portée maximale de la dose radiale (r_{max}) $< 100 \text{ nm}$. Dans ce cas l’ensemble des événements létaux sont produits par des ions qui surviennent à moins de 100 nm du pixel.

Cas extrême des vitesses élevées : Pour une vitesse élevée, par exemple 200 MeV/u , plus de **85%** des événements létaux sont faits par des ions arrivant à moins de 100 nm du pixel bien que ces ions ne contribuent qu’à seulement **25%** de la dose totale délivrée au pixel. En fait, en dessous de 100 nm on est dans la zone où D_{locale} est très supérieure à D_{seuil} et en dessus de 100 nm la dose locale D_{locale} est très inférieure à D_{seuil} . Dans ce domaine, la contribution aux événement létaux s’exprime en très bonne approximation par :

$$(\alpha + 2 \cdot \beta \cdot D_{seuil}) * D_{locale} \quad (6.44)$$

Ce nombre est à comparer à la contribution des ions plus éloignés où la dose locale est inférieure à D_{seuil} qui s’exprime en première approximation par :

$$\alpha \times D_{locale} \quad (6.45)$$

Le rapport vaut $\frac{(\alpha + 2 \cdot \beta \cdot D_{seuil})}{\alpha} \approx 50$ dans le cas des cellules SQ 20B. En conséquence, même si la contribution en dose des ions survenant à des distances $> 100 \text{ nm}$ atteint 75%, les événements létaux sont essentiellement dus à des ions arrivant à moins de 100 nm et qui ne représentent que 25% de la dose totale.

Aux vitesses intermédiaires. Il est vrai que la dose locale peut dépasser D_{seuil} au delà de 100 nm . On s’attend donc à une augmentation certaine de la contribution en événements létaux des ions éloignés de plus de 100 nm du pixel. En regardant le tableau 6.9 on constate que néanmoins, l’essentiel de la contribution aux événements létaux se trouve au dessous de 100 nm . Pour le carbone à faible fluence, en généralisant, on peut dire que l’essentiel des événements létaux est créé par des ions survenant au voisinage très proche du noyau (c’est à dire inférieure à 100 nm).

On doit s’attendre de ce fait à une section efficace pour le carbone qui ne dépassera pas la surface du noyau quelque soit la vitesse de l’ion. On constate d’autre part que pour les vitesses élevée, une bonne partie de

l'énergie ne contribue presque pas à l'essentiel des événements létaux. Par exemple le tableau 6.15 montre que **75% de l'énergie déposée en moyenne contribue à seulement 10 % des événements létaux.**

Cas des protons :

On obtient résultats similaires si ce n'est qu'à des vitesses de l'ordre de 200 MeV/u la dose locale ne dépasse jamais D_{seuil} . S'appuyant sur le cas du carbone on devrait s'attendre à un rééquilibrage des contributions "proches" et "éloignées". On observe cependant que 74 % de la contribution aux événements létaux est réalisée pour des distances inférieures à 100 nm.

Ceci s'explique par le fait que si l'on regarde non pas D_{seuil} mais $D_1 = \frac{\alpha}{\beta} \simeq 0.5 \text{ Gy}$, D_1 représente la dose où se termine l'approximation $N_{letal}(D) \simeq \alpha \times D$ et où commence l'épaulement en " $\alpha \times D + \beta \times D^2$ ". On constate alors que, bien que **seulement 20 % de la contribution en dose corresponde à des doses locales supérieures à D_1 , 70 % de la contribution en événements létaux dans le pixel sont réalisés pour de tels niveaux de dose.**

En conclusion : **même pour les protons à 200 MeV/u, la contribution à la mort cellulaire, pour la lignée cellulaire considérée, se fait par impact direct dans le noyau (impact inférieur à 100nm). Un rapport $\frac{2 \times \beta \times D_{seuil}}{\alpha}$ élevé renforce cette conclusion.** Une faible valeur de D_{seuil} permet à un ion de contribuer un peu plus loin du noyau. En effet, si nous considérons le cas où : $\frac{2 \times \beta \times D_{seuil}}{\alpha} = 1$. Alors nous constatons qu'à des vitesses de 200 MeV/u seulement 30 % de la contribution es événements létaux est réalisée par des ions arrivant à moins de 100 nm du pixel (74 % si $\frac{2 \times \beta \times D_{seuil}}{\alpha} \simeq 45$).

Cas des ions Argon

Dans le cas de l'argon ou pour les ions plus lourds à 200 MeV/u les conclusions précédentes restent valables. En dessous de ces vitesses (par exemple 10, 30 et 50 MeV/u) les distances pour lesquelles la D_{locale} est supérieure à D_{seuil} deviennent plus grande que 100 nm. Par conséquent, ces ions peuvent contribuer de manière significative aux événements létaux à des distances supérieures. En effet, le tableau 6.7 montre que 47 % de la contribution en événements létaux est réalisé par des ions survenant à des distances supérieures à 100 nm du pixel. **Notons quand même que D_{seuil} reste un paramètre intéressant puisque que 90 % des événements létaux sont produits par des doses locales supérieures à D_{seuil} .**

Remarques générales

L'analyse des tableaux nous a permis de tirer les conclusions suivantes :

- Le différentiel d'effet entre les photons X et les ions sera d'autant plus marqué que le rapport $\frac{2 \times \beta \times D_{seuil}}{\alpha}$ sera grand.
- Pour les ions légers à haute vitesse (cas du proton à 200 MeV), le paramètre $\frac{\alpha}{\beta}$ semble être aussi un critère important qu'il conviendra d'extraire très précisément des expériences de survie aux R-X.

- La dose déposée loin du pixel ne contribue que très faiblement aux événements létaux . En d'autre terme on s'attend à ce que, pour un même *T.E.L.* , l'ion le plus lent présente un meilleur rendement en événements létaux .

TAB. 6.2 – fraction, de la dose pondérée et des densité d'événements létaux , calculées pour 3 critères en dose et 2 critères en paramètre d'impact. Cas du proton à 1 *MeV/u*

Proton 1 <i>MeV/u</i> $r_{max} = 0.05 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	99	99
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	100	100
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	100	100
$r_{limite} = 0.01 \mu m$	24	24
$r_{limite} = 0.03 \mu m$	76	76

TAB. 6.3 – fraction, de la dose pondérée et des densité d'événements létaux , calculées pour 3 critères en dose et 2 critères en paramètre d'impact. Cas du carbone à 1 *MeV/u*

Carbone 1 <i>MeV/u</i> $r_{max} = 0.05 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	100	100
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	100	100
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	100	100
$r_{limite} = 0.01 \mu m$	24	24
$r_{limite} = 0.03 \mu m$	76	76

TAB. 6.4 – fraction, de la dose pondérée et des densité d'événements létaux , calculées pour 3 critères en dose et 2 critères en paramètre d'impact. Cas de l'argon à 1 MeV/u

Argon 1 MeV/u $r_{max} = 0.05 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	100	100
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	100	100
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	100	100
$r_{limite} = 0.01 \mu m$	24	24
$r_{limite} = 0.03 \mu m$	76	76

TAB. 6.5 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$. Cas du proton à 10 MeV/u

Proton 10 MeV/u $r_{max} = 2.5 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	33	84
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	39	90
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	58	97
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	47	94
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	23	65

TAB. 6.6 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance ($pixel - ion$) $< r_{limite}$. Cas du carbone à 10 MeV/u

carbone 10 MeV/u $r_{max} = 2.5 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	63	92
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	68	96
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	87	99
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	47	72
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	23	37

TAB. 6.7 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance $(pixel - ion) < r_{limite}$. Cas de l'argon à 10 MeV/u

Argon 10 MeV/u $r_{max} = 2.5 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	81	95
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	87	98
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	100	100
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	47	57
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	23	29

TAB. 6.8 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance $(pixel - ion) < r_{limite}$. Cas du proton à 30 MeV/u

Proton 30 MeV/u $r_{max} = 16.2 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	18	76
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	22	83
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	36	92
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	35	92
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	42	93

TAB. 6.9 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance $(pixel - ion) < r_{limite}$. Cas du carbone à 30 MeV/u

Carbone 30 MeV/u $r_{max} = 16.2 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	40	90
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	45	93
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	59	97
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	35	82
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	42	91

TAB. 6.10 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance $(pixel - ion) < r_{limite}$. Cas de l'argon à 30 MeV/u

Argon 30 MeV/u $r_{max} = 16.2 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	54	93
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	58	96
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	73	99
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	35	64
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	42	75

TAB. 6.11 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance $(pixel - ion) < r_{limite}$. Cas du proton à 50 MeV/u

Proton 50 MeV/u $r_{max} = 38.7 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	14	72
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	18	79
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	30	88
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	32	89
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	47	92

TAB. 6.12 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance $(pixel - ion) < r_{limite}$. Cas du carbone à 50 MeV/u

Carbone 50 MeV/u $r_{max} = 38.7 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	33	88
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	37	92
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	50	96
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	32	85
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	47	96

TAB. 6.13 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance $(pixel - ion) < r_{limite}$
. Cas de l'argon à 50 MeV/u

Argon 50 MeV/u $r_{max} = 38.7 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	46	92
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	50	95
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	63	98
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	32	67
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	47	93

TAB. 6.14 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance $(pixel - ion) < r_{limite}$
. Cas du proton à 200 MeV/u

Proton 200 MeV/u $r_{max} = 408 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	0	0
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	8	53
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	18	70
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	25	74
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	60	86

TAB. 6.15 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance $(pixel - ion) < r_{limite}$
. Cas du carbone à 200 MeV/u

Carbone 200 MeV/u $r_{max} = 408 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	21	82
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	24	88
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	34	93
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	25	89
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	60	96

TAB. 6.16 – fraction de la dose délivrée au dessus de 3 niveau de dose ou pour des distance $(pixel - ion) < r_{limite}$. Cas de l'argon à 200 MeV/u

Argon 200 MeV/u $r_{max} = 408 \mu m$	fraction de dose pondérée en %	fraction de densité d'événements létaux pondérés en %
$D_{seuil} = 10 Gy$	31	88
$D_{critique} = \frac{D_{seuil}}{2} = 5 Gy$	34	92
$D_{\alpha/\beta} = 0.5 Gy$	44	96
$r_{limite} = 0.1 \mu m$	25	77
$\frac{r_{limite}}{r_{max}} = 0.01$	60	97

6.4.4 Influence des paramètres (α / β) et D_{seuil} sur la densité moyenne d'événements létaux dans le pixel

Dans le paragraphe précédent nous nous sommes attaché à extraire quelques paramètres importants de la formation des événements létaux dans le pixel. Il est également important d'essayer de prédire l'évolution des contributions en événements létaux sur le pixel en fonction de l'évolution des paramètres clefs du système. L'objectif étant de prédire pour le *L.E.M.*, les paramètres les plus sensibles et qu'il faudra donc particulièrement soigner lors de leur extraction expérimentale.

Dans les expressions qui conduisent au nombre d'événements létaux (voir équation 6.36 p. 139 et voir équation 6.37 p. 139) il est intéressant de factoriser l'ensemble par β . Nous observons que N_{letal} s'exprime de la façon suivante :

– Si $D(r) < D_{seuil}$ alors :

$$N_{letal} = \beta \times \left(\frac{\alpha}{\beta} \times D + D^2 \right) \quad (6.46)$$

– Si $D(r) > D_{seuil}$ alors :

$$N_{letal} = \beta \times \left(\frac{\alpha}{\beta} \times D_{seuil} + D_{seuil}^2 + \left(\frac{\alpha}{\beta} + 2 \times D_{seuil} \right) \times (D - D_{seuil}) \right) \quad (6.47)$$

On remarque que le rapport $\frac{N_{letal}}{\beta}$ ne dépend que des paramètres (α / β) et D_{seuil} . Il est également intéressant de noter que :

- pour les très faibles doses : $\frac{N_{letal}}{\beta}$ ne dépend que de (α / β)
- pour les très fortes doses : $\frac{N_{letal}}{\beta}$ ne dépend que de D_{seuil}

Nous présentons à ce sujet le tableau 6.17 qui montre l'évolution des contributions en événements létaux pour des ions de 30 MeV/u dont la distance au pixel est inférieure où égale à 100 nm en fonction du paramètre (α / β) pour $D_{seuil}=10Gy$.

TAB. 6.17 – Influence de (α / β) pour des ions de 30 MeV/u . Contributions en événements létaux délivrée pour les paramètres d'impact $(\text{pixel} - \text{ion}) < r_{\text{limite}}$

$\beta = 0.0742$ et $r_{\text{limite}} = 100 \text{ nm}$	$\alpha / \beta = 0.1 \text{ Gy}$	$\alpha / \beta = 0.5 \text{ Gy}$	$\alpha / \beta = 10 \text{ Gy}$
proton	97 %	92 %	52 %
carbone	84 %	82 %	57 %
argon	65 %	64 %	51 %

Si au lieu de fixer β , on fixe α et on note l'évolution des contributions en événements létaux, on obtient exactement les mêmes résultats. On retiendra que tant que le rapport α / β est constant, les résultats présentés dans le tableau 6.17 restent valable quelque soit l'évolution de α et β . En effet, on montre analytiquement que les densités d'événements létaux pondérés de 0 à r s'expriment sous la forme :

$$\beta \times (f(r) + \alpha / \beta \times g(r)) \quad (6.48)$$

On observe que le rapport des densité d'événements létaux pondérés de 0 à r et de 0 à r_{max} ne dépend donc que de (α / β) . Les résultats présentés ici mettent en évidence le fait que **si le rapport (α / β) augmente la contribution des ions aux événements létaux loin du pixel augmente**. On peut interpréter cela de la manière suivante :

- **Lorsque (α / β) est grand**, l'épaulement de la courbe de survie aux R-X se produit pour des doses plus élevées et de ce fait on réduit la distance minimale ion-pixel pour laquelle la dose locale est supérieure à (α / β) . C'est à dire que l'on diminue la surface de contribution des grandes doses locales. Par conséquent, statistiquement on diminue la contribution en événements létaux des fortes doses locales (celles qui contribuent le plus en événements létaux). **Ainsi, les collisions à grand paramètre d'impact reprennent une importance relative.**

Le tableau 6.18 met en évidence l'évolution des contributions en événements létaux sur le pixel, des protons, des ions carbone et des ions argon, pour des distances au pixel inférieure à r_{limite} en fonction de D_{seuil} pour $(\alpha / \beta) = 0.5$.

TAB. 6.18 – Influence de D_{seuil} pour des ions H, C et Ar de 30 MeV/u . Fraction de la dose délivrée pour des distance $(\text{pixel-ion}) < r_{\text{limite}}$

$\alpha / \beta = 0.5 \text{ Gy}$ $r_{\text{limite}} = 100 \text{ nm}$	$D_{\text{seuil}} [\text{Gy}]$ 0.1	$D_{\text{seuil}} [\text{Gy}]$ 1	$D_{\text{seuil}} [\text{Gy}]$ 4	$D_{\text{seuil}} [\text{Gy}]$ 10	$D_{\text{seuil}} [\text{Gy}]$ 20	$D_{\text{seuil}} [\text{Gy}]$ 30
proton	42 %	70 %	86 %	92 %	94 %	95 %
carbone	39 %	56 %	72 %	82 %	89 %	92 %
argon	37 %	48 %	57 %	64 %	70 %	74 %

On note que lorsque D_{seuil} augmente, la contribution près du pixel augmente. Si on compare ces résultats avec ceux du tableau 6.17 on constate que diminuer D_{seuil} produit le même effet que lorsque l'on augmente le rapport (α / β) .

Lorsque D_{seuil} augmente, la pente de la courbe de survie au R-X au delà de D_{seuil} augmente. On favorise ainsi les fortes doses ce qui compense largement le fait que l'on diminue la zone pour laquelle la dose radiale est supérieure à D_{seuil} . Ainsi, on favorise la contribution aux événements létaux des ions à faible paramètre d'impact. Dans le cas où $D_{seuil} = \alpha / \beta$, la courbe de survie photons prend une forme purement exponentielle et la fraction des événements létaux pour $r < 100$ nm demeure faible.

6.5 Conclusions de l'étude théorique

Cette étude permet de comprendre quels sont les impacts des ions qui apportent une forte contribution en dose ou en événements létaux dans le pixel. Elle met en évidence les paramètres importants du modèle *L.E.M.* sans faire aucune simulation. En résumé nous retiendrons :

- $\frac{2 \times \beta \times D_{seuil}}{\alpha}$ semble être un paramètre clé du modèle qui présente un effet plus marqué avec les ions les plus lourds (*T.E.L.* élevé).

Plus D_{seuil} est faible et plus l'ion peut contribuer loin du pixel et moins il y aura d'effets de trace.

- D_{seuil} , dont la détermination expérimentale est difficile est cependant intrinsèquement importante puisque la plus grande partie des défauts sont créés avec des doses bien supérieures à cette dernière.
- α représente la contribution en événements létaux de l'ion au delà de 100 nm. Dans notre exemple, lorsque α devient suffisamment grand ($\alpha / \beta \simeq 10$) la contribution en événements létaux au delà de 100 nm passe de 8 % à 48 % pour les protons. On note bien entendu que plus l'ion est lourd moins le rôle de α est important.
- La pixélisation semble n'avoir que peu d'effet si la dimension du pixel reste raisonnable, c'est à dire de l'ordre de 10 nm \times 10 nm. Au vu des figures 6.10, 6.11 et 6.12, on s'attend à ce que cet effet soit maximum pour des protons de 10 MeV/u. Aux énergies plus élevées, la pixélisation devrait jouer un rôle, dans une moindre mesure, pour des ions de charge comprise entre 2 et 8 et des tailles de pixel significatives (≥ 100 nm).

Choix des critères en dose locale

A l'exception du proton à 200 MeV/u où la dose locale est toujours inférieure à D_{seuil} nous avons considéré dans le raisonnement précédent D_{seuil} comme critère d'étude. Les tableaux 6.2 à 6.16 montrent les résultats des contributions en dose et en événements létaux pour deux autres niveaux de dose que sont $\frac{D_{seuil}}{2}$ et $D_{\alpha/\beta}$. Nous rappelons que :

- $\frac{D_{seuil}}{2}$ représente en première approximation la dose pour laquelle la droite représentant le nombre d'événements létaux pour les fortes doses coupe l'axe des abscisses (aucun événement létaux).

- $D_{\alpha/\beta}$ représente la dose pour laquelle $\alpha \times D$ égale $\beta \times D^2$. **En d’autres termes, $D_{\alpha/\beta}$ représente la dose pour laquelle, on se trouve dans l’épaule de la courbe de survie.**
- On note que la survie à 2 Gy est donnée par la relation :

$$2 \times \beta \times (\alpha/\beta + 2) \quad (6.49)$$

Prenons deux cas extrêmes :

- (α/β) très petit alors $S_{2\text{ Gy}} = 4 \times \beta$ donc β est le paramètre lié à la radiosensibilité.
- (α/β) très grand alors $S_{2\text{ Gy}} = 2 \times \alpha$ et α est le paramètre lié à la radiosensibilité. **En d’autres termes, contrairement à ce qui est souvent dit, (α/β) ne mesure pas la radiosensibilité d’une lignée cellulaire.**

D’après les résultats D_{seuil} semble être le meilleur critère d’étude car il met en relief l’effet “coeur de trace”. Au delà du coeur de trace, si la contribution en dose est loin d’être négligeable, elle se traduit par une contribution qui demeure faible en événements létaux .

Les simulations à l’aide du modèle *L.E.M.* permettrons de vérifier si ces domaines d’influences s’appliquent, d’une manière générale, au noyau cellulaire. En résumé nous retiendrons :

- $\frac{2 \times \beta \times D_{seuil}}{\alpha}$ semble être un paramètre clé du modèle *L.E.M.*,
- D_{seuil} , dont la détermination expérimentale est difficile, est cependant intrinsèquement importante puisque la plus grande partie des défauts sont créés avec des doses bien supérieures à cette dernière.
- La pixélisation semble n’avoir que peu d’effet si la dimension du pixel reste raisonnable, c’est à dire $\leq 100 \text{ nm} \times 100 \text{ nm}$.

6.6 Etude du modèle *L.E.M.* : Validation par des simulations

6.6.1 Influence du rayon nucléaire : R_n

A partir des résultats des simulations, nous calculons la section efficace de mort cellulaire (σ) pour des protons de 1 MeV, des ions carbone de 1 *MeV/u* et de 10 *MeV/u* . L’objectif est d’évaluer la pertinence d’une mesure des dimensions des noyaux cellulaires sur la prédiction du *L.E.M.*. Aussi, plutôt que s’intéresser à la section efficace σ nous avons défini le rayon efficace, noté $R_{eff} = \sigma/\pi$. L’idée est que dans le cas où l’effet balistique domine ³, R_{eff} doit tendre vers le rayon du noyau cellulaire. Le graphique 6.14 représente l’évolution de R_{eff} en fonction du rayon nucléaire R_{cell} .

³un impact dans le noyau, d’un ion de vitesse faible (fort *T.E.L.*), conduit à la mort. Un impact hors du noyau ne produisant pas d’effet létaux

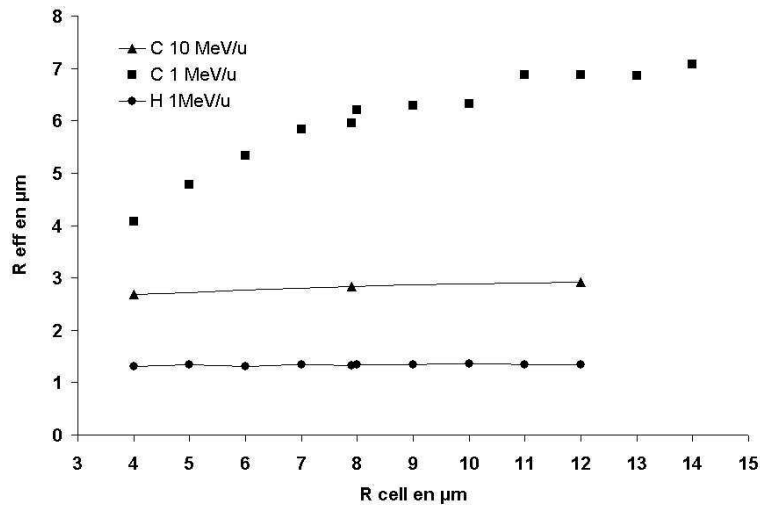


FIG. 6.14 – Influence des dimensions du noyau cellulaire. Cas des protons de 1 *MeV/u* et des carbone de 1 *MeV/u* et 10 *MeV/u*

Observations et interprétations

A partir du graphique 6.14 on note que :

- Pour le carbone à 1 *MeV/u*, une variation de R_{eff} de 4 à 7 μm , soit un facteur 3 en terme de section efficace correspond à une variation d'un facteur 5 sur la survie à 2 Gy.
- Pour les faibles *T.E.L.* (H 1 *MeV/u* et C 10 *MeV/u*), l'effet de la taille du noyau est beaucoup moins sensible. En fait nous sommes loin de l'effet balistique décrit précédemment.
- pour le cas du carbone à 1 *MeV/u*, il est intéressant de noter que pour des rayons inférieurs à 6 μm , l'effet balistique est prédominant. Au delà, la courbe montre une saturation. Ceci s'explique par le fait que la densité surfacique d'événements létaux, qui est la clef de la détermination de la survie cellulaire aux ions, est définie par :

$$d_{el} = N_{letal_{X(D)}} / Surface_{noyau} \quad (6.50)$$

ou d_{el} est la densité surfacique des événements létaux à une dose D. D est la dose locale (voir paragraphe 5.3.1 p. 110). Aussi lorsque la surface augmente, en conservant la même courbe de survie aux photons, le nombre d'événements létaux pour un impact d'ion diminue, ce qui produit une saturation de la section efficace.

6.6.2 Influence de la dose seuil : D_{seuil}

Comme nous l'avons discuté dans l'étude de la dose déposée en un seul pixel voir paragraphe 6.4.4 p. 151, D_{seuil} semble être un paramètre très important de notre simulation. L'étude de l'influence de ce paramètre sur les résultats de nos simulations est représentée par la figure 6.15.

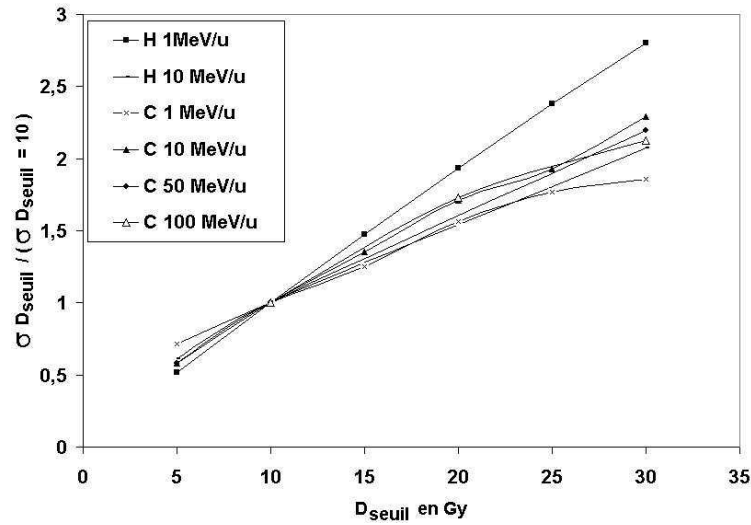


FIG. 6.15 – Influence du paramètre D_{seuil} sur la section efficace de survie au faible dose. σ est normalisée sur la valeur obtenue pour $D_{seuil}=10$ Gy

Observations et interprétations

A partir du graphique 6.15 nous pouvons noter que :

- Pour le proton à 1 MeV/u, la section efficace aux faibles doses est proportionnelle à D . On peut écrire en très bonne approximation que $\frac{\Delta\sigma}{\sigma} = \frac{\Delta D}{D}$
- On observe que pour le cas du carbone à 1 MeV/u, l'évolution de la section efficace en fonction de l'évolution de D_{seuil} est moins importante que dans le cas du proton à 1 MeV/u. Ceci s'explique du fait qu'avec le carbone nous avons un effet purement balistique, quelque soit la valeur de D_{seuil} , où la section efficace tend vers la surface du noyau.

Ces résultats confirment les remarques que nous avons formulées précédemment (voir paragraphe 6.4.4 p. 151). Le paramètre D_{seuil} permet de modifier considérablement l'allure de la courbe de survie aux rayons X et de ce fait influe considérablement sur le résultat des simulations avec les particules de haut *T.E.L.* . Ce paramètre étant très sensible sur le résultat des simulations, il conviendra de le déterminer avec la plus grande précision. Une erreur de 20 % sur la détermination de D_{seuil} entrainerait une erreur presque aussi importante sur la section efficace d'inactivation aux faibles doses.

6.6.3 Influence des paramètres α et β

Pour compléter l'étude de l'effet des paramètres associés à la courbe de survie photons, il convient de s'intéresser également à l'influence des paramètres α et β sur le résultat des simulations.

Influence de β

Dans un premier temps, on fixe le paramètre α (0.0338) et on regarde l'évolution des sections efficaces aux faibles doses en fonction de l'évolution du rapport α / β . Le graphique 6.16 présente les résultats obtenus lorsque le paramètre β passe de 0.0742 (valeur déduite de nos courbes de survie photons pour la lignée SQ20B, soit un rapport $\alpha / \beta = 0.5$) à 0.00338 ($\alpha / \beta = 10$) ou 0.338 ($\alpha / \beta = 0.1$).

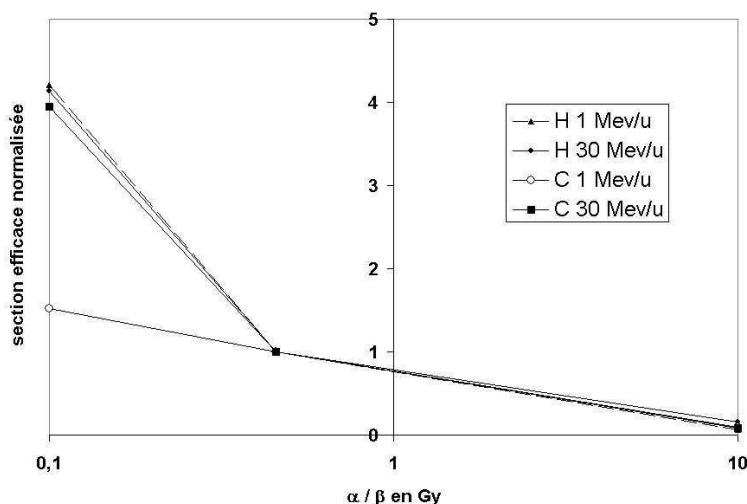


FIG. 6.16 – Evolution de la section efficace en fonction de l'évolution de β . ($\alpha / \beta = 0.1$; 0.5 ou 10)

Observations et interprétations

A partir du graphique 6.16 nous notons que :

- Quelque soit l'ion considéré, lorsque l'on diminue la valeur de β (d'un facteur 20) alors la section efficace diminue fortement (d'un facteur 10).
- Exepté pour le carbone à 1 MeV/u , lorque β augmente à peu près d'un facteur 4.5 alors la section efficace augmente environ d'un facteur 4.
- Dans le cas du carbone à 1 MeV/u , l'augmentation de β ne se traduit pas par une augmentation proportionnelle de la section efficace. Ceci s'explique à nouveau par le fait que dans le cas du carbone à 1 MeV/u , nous sommes dans la zone de saturation de la section efficace (effet purement balistique).

Influence de α

Dans un deuxième temps on fixe la valeur de β (0.0742) et on regarde l'évolutions des sections efficaces aux faibles doses en fonction de l'évolution du rapport α / β . Le graphique 6.17 présente les résultats obtenus lorsque le paramètre α passe de 0.0338 (valeur déduite de nos courbes de survie photons, soit un rapport $\alpha / \beta = 0.5$) à 0.742 ($\alpha / \beta = 10$) ou 0.0742 ($\alpha / \beta = 0.1$).

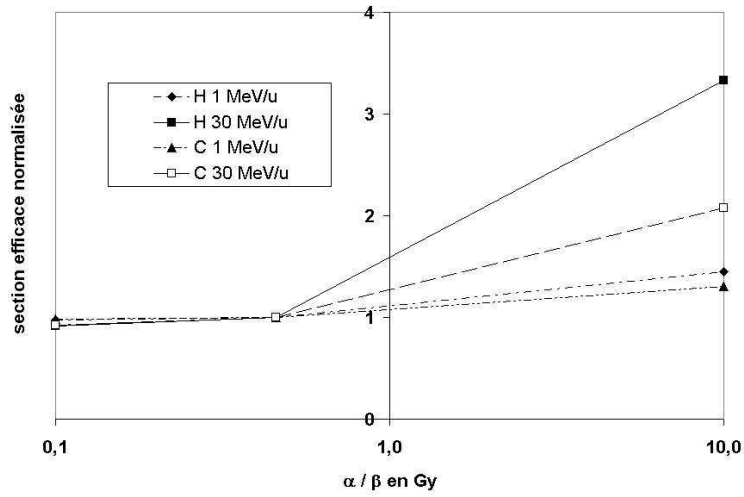


FIG. 6.17 – Evolution de la section efficace en fonction de l'évolution de α . ($\alpha / \beta = 0.1 ; 0.5$ ou 10)

- Quelque soit l'ion considéré, lorsque l'on diminue la valeur de α d'un facteur 4.5 (de 0.0338 à 0.00742), soit un rapport de α / β passant de 0.5 à 0.1, la section efficace reste quasiment inchangée.
- Lorsque la valeur de α augmente d'un facteur 20 (de 0.0338 à 0.742), soit un rapport de α / β passant de 0.5 à 10, la section efficace d'inactivation augmente également mais de manière très différente selon l'ion et l'énergie considérée.
- Pour le carbone, l'évolution de la section efficace est de l'ordre de 2 pour un énergie de 30 *MeV/u* lorsque le rapport α / β passe de 0.5 à 10. Pour 1 *MeV/u* , la section efficace évolue de 30 % lorsque le rapport α / β évolue d'un facteur 20.
- Pour le proton de 1 *MeV/u* , la section efficace d'inactivation augmente d'un facteur 3.3 lorsque α augmente d'un facteur 20. Cette évolution est de 40 % pour les protons de 30 *MeV/u* .
- Dans le cas du carbone à 1 *MeV/u* , l'augmentation de α (de 0.0338 à 0.742) ne se traduit pas par une augmentation proportionnelle de la section efficace. Ceci s'explique à nouveau par le fait que dans le cas du carbone à 1 *MeV/u* , on se trouve dans la zone de saturation de la section efficace (effet purement balistique).
- Dans le cas du proton à 1 *MeV/u* , on constate également que l'augmentation de α n'entraîne pas une augmentation proportionnelle de la section efficace. Ceci s'explique par le fait qu'à cette énergie de proton, la quasi totalité des défauts sont réalisés pour des doses supérieures à D_{seuil} et où le paramètre α n'a que peu d'influence par rapport à β .

Le tableau 6.19 présente les valeurs des sections efficaces d'inactivation pour différents couples de paramètres α et β à α / β fixe. On constate que dans chaque cas présenté, les fluctuations des sections efficaces sont beaucoup plus sensibles avec le paramètre β . La sensibilité de β devient moindre lorsque la section efficace sature (cas du carbone de 1 *MeV/u* par exemple).

TAB. 6.19 – Evolution de la section efficace d'inactivation en fonction des paramètres α et β . Surface du noyau=196 μm^2

Z particule	E particule	α en Gy^{-1}	β en Gy^{-2}	α / β en Gy	Section efficace d'inactivation en μm^2
1	1	0,00742	0,0742	0,1	5,5
1	1	0,0338	0,338	0,1	24,0
1	1	0,0338	0,0742	0,5	5,7
1	1	0,742	0,0742	10,0	8,3
1	1	0,0338	0,00338	10,0	0,39
1	30	0,00742	0,0742	0,1	0,085
1	30	0,0338	0,338	0,1	0,38
1	30	0,0338	0,0742	0,5	0,092
1	30	0,742	0,0742	10,0	0,31
1	30	0,0338	0,00338	10,0	0,014
6	1	0,00742	0,0742	0,1	118,5
6	1	0,0338	0,338	0,1	174,0
6	1	0,0338	0,0742	0,5	120,2
6	1	0,742	0,0742	10,0	157,1
6	1	0,0338	0,00338	10,0	11,3
6	30	0,00742	0,0742	0,1	5,9
6	30	0,0338	0,338	0,1	28,0
6	30	0,0338	0,0742	0,5	6,4
6	30	0,742	0,0742	10,0	13,4
6	30	0,0338	0,00338	10,0	0,6

6.6.4 Effet de la pixelisation

La figure 6.18 représente l'évolution de la section efficace d'inactivation, normalisée à l'unité pour le pixel le plus fin. Les dimensions des pixels sont exprimées en μm .

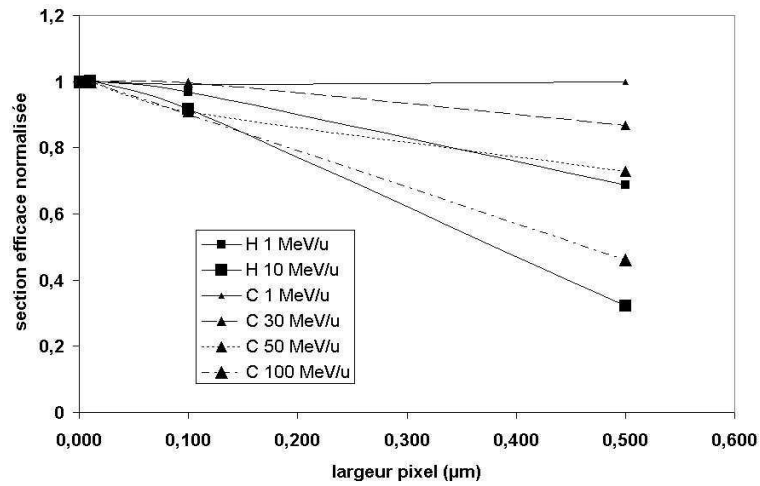


FIG. 6.18 – Evolution de la section efficace en fonction de la dimension du pixel pour des protons et des carbones de différentes énergies.

Observations et interprétations

nous pouvons remarquer que :

- Exepté le cas des ions carbone de 1 MeV/u , l'augmentation de la taille du pixel engendre pour tous les ions et toutes les énergies une diminution de la section efficace d'inactivation.
- Pour les ions carbone de 1 MeV/u , il n'y a que très peu d'influence de la pixélisation. Ceci s'explique par le fait que quelque soit les dimensions du pixel (≤ 500 nm), nous nous trouvons toujours dans une zone de saturation de la section efficace.

Ces résultats sont en parfaite concordance avec ce que nous avons obtenu lors de l'étude théorique sur un seul pixel (voir paragraphe 6.4.2 p. 139).

6.6.5 Effet de la modélisation de la trace de l'ion

Distribution de dose radiale simple et distribution de dose radiale de Waligorski Pour comparer directement l'effet global du changement de distribution de dose radiale, on a calculé les taux de survie, pour les cellules CHO, pour une exposition à des ions carbone de 1 MeV/u et 5 MeV/u et pour les trois tailles de pixel 1 nm, 10 nm et 100 nm. A cette vitesse là l'effet de la modification de la distribution de dose radiale apportée par Waligorski doit être maximale. Les simulations ont été effectuées à la dose de 0,1 Gy.

Le tableau 6.20 présente les résultats obtenus par simulation avec les deux modèles de dose radiale. Les valeurs de survie obtenues pour la distribution de dose de Waligorski sont sensiblement identiques à celles trouvées pour la distribution de dose " simple ". A ces énergies, l'effet est purement balistique et la modification apportée par Waligorski modifie la distribution radiale de dose uniquement pour les

TAB. 6.20 – Comparaison des Taux de survie cellulaire. Distribution radiale “simple” et de Waligorski

Energie des particules	1 MeV/u		5 MeV/u	
Taille des pixels (nm)	1	1	1	1
Modèle	Simple	Waligorski	Simple	Waligorski
Dose calculée (Gy)	0,0974	0,10	0,0941	0,10
Incertitude relative (Dose)	3,3 %	3.7 %	3.7 %	5,3 %
Taux de survie	94.0 %	93,4 %	91.1 %	90,9 %
Incertitude relative (Taux de survie)	0,21 %	0,3 %	0,35 %	0,6 %

distances inférieures à 10 nm de l’axe de la trace. La survie cellulaire s’en trouve pratiquement inchangée.

Introduction d’une limite radiale dans l’intégration de dose : R_{limite} Pour valider les hypothèses émises lors de l’étude théorique, nous avons testé l’influence de l’introduction d’un rayon limite au delà duquel la distribution de dose radiale n’est plus prise en compte. Le tableau 6.21 présente les résultats obtenus avec cette simplification pour la survie cellulaire et pour le calcul de la dose moyenne sur le noyau. Des ions carbone d’énergie 30 MeV/u sont considérés.

TAB. 6.21 – Dose calculée dans le noyau et taux de survie cellulaire avec ou sans prise en compte de R_{limite} .

Energie des particules	30 MeV/u	
Parcours maximal des électrons δ	16,2 μ m	
Taille des pixels (nm)	1	1
Dose demandée (Gy)	1	1
Modèle	Simple	Simple
R_{limite}	16.2 μ m	0.1 μ m
Dose calculée (Gy)	1.0011	0,3544
Incertitude relative (Dose)	2,1 %	2.5 %
Taux de survie	53.1 %	60.2 %
Incertitude relative (Taux de survie)	1,7 %	1,2 %

On remarque que si la dose calculée avec l’introduction de R_{limite} est très différente de la dose obtenue sans simplification (qui correspond à la dose prescrite), le taux de survie cellulaire est largement moins affecté. En effet, avec une diminution de dose de près de 70 %, le taux de survie n’augmente que de 13 % environ. Cela signifie que si seulement 35 % de la dose est délivrée au noyau par des ions survenant à des distances inférieures à 100 nm, les événements létaux calculés pour ces dépôts de dose (inférieurs à

100 nm) représentent la majorité des événements létaux produits. Ce résultat est en parfait accord avec nos remarques formulées lors de l'étude sur un seul pixel (voir paragraphe 6.4.3 p. 144).

Validations expérimentales et résultats de dosimétrie

Chapitre 7

Validation expérimentale

7.1 Introduction

L'objectif de ce travail a été de confronter les prédictions de survie du modèle d'effet local à l'expérimentation *in-vitro*. Pour ce faire, deux lignées cellulaires tumorales humaines de radiosensibilités différentes ont été sélectionnées afin de les irradier avec les ions légers. Le choix de ces lignées cellulaires a été effectué en collaboration avec le laboratoire de radiobiologie cellulaire et moléculaire de l'E.A. 3738¹. L'idée a été de se rapprocher le plus possible de l'application clinique des ions légers dans le traitement des tumeurs cancéreuses. Comme nous l'avons décrit précédemment, le modèle *L.E.M.* nécessite 3 paramètres radiobiologiques que nous devons déterminer expérimentalement :

- le paramètre α , déterminé à partir des courbes de survie cellulaire photons,
- le paramètre β , déterminé lui aussi à partir des courbes de survie cellulaire photons,
- le rayon moyen des noyaux cellulaires des différentes lignées.

La collaboration avec le laboratoire de l'E.A. 3738 nous a permis d'effectuer, d'une part, les courbes de survie cellulaire avec les photons et d'autre part les courbes de survie avec les ions légers. La détermination du rayon moyen des noyaux de chaque lignée a nécessité une collaboration avec le laboratoire de microscopie² de la faculté Lyon I.

Les irradiations avec les photons ont été réalisées dans le service de radiothérapie de l'hôpital Lyon Sud à l'aide d'un accélérateur linéaire médical VARIAN 2100. Pour valider les prédictions du modèle, nous avons établi diverses courbes de survie aux particules de haut *T.E.L.* . Pour ce faire, nous avons élaboré puis réalisé plusieurs expériences qui se sont déroulées au Grand Accélérateur National d'Ions Lourds (GANIL) à Caen. Le GANIL n'étant pas équipé de générateur R-X, nous avons réalisé les irradiations en photons et en ions à des temps différés. Nous présenterons également des points expérimentaux obtenus,

¹faculté de médecine Lyon-Sud

²centre technologique des microstructures de l'UCBL

par le laboratoire de l'E.A. 3738, au GSI³ avec des ions carbone. Pour ces dernières expériences, les courbes de survie en photons et en ions ont été réalisées simultanément.

7.2 Les lignées cellulaires

Deux lignées tumorales adhérentes, proche d'un modèle tumoral solide, ont été utilisées pour cette étude. Elles ont été choisies car elles présentaient des sensibilités différentes aux radiations ionisantes. Elles ont été établies à partir d'un même type histologique d'adénocarcinome de la tête et du cou, ce qui les rend directement comparables. La lignée SCC61, qui montre une sensibilité modérée aux radiations ionisantes (SF2 ⁴ de l'ordre de 0,36), provient d'un carcinome ORL de la langue alors que la lignée dite radorésistante SQ20B (SF2 voisine de 0,82) provient d'un carcinome ORL du pharynx.

7.3 Entretien des lignées cellulaires

L'entretien des lignées cellulaires SCC61 et SQ20B est réalisé en milieu DMEM-Glutamax I contenant 10 % de sérum de veau foetal, 0,04 mg/l d'hydrocortisone, 10⁵ UI/l de pénicilline, 0,1 g/l de streptomycine et 0,1 % de fungizone. L'incubation est réalisée à 37 ° C dans une atmosphère à 5% de CO₂, 95% d'air, et 100% d'humidité.

7.4 Détermination de la taille moyenne des noyaux cellulaires.

La détermination du diamètre des noyaux cellulaires est une étape indispensable dans les simulations de survie avec le modèle *L.E.M.*. Nous avons effectué la mesure du rayon moyen des noyaux de chaque lignée en collaboration avec le laboratoire de microscopie de la Doua ⁵. Le microscope confocal nous a semblé être l'outil de prédilection pour ce type de mesure (Townsend, Stretch, Stevens, et Goodhead 1990), (Townsend et Marsden 1992)) et (Bettega, Calzolari, Doglia, Dulio, Tallone, et Villa 1998). Le microscope confocal à balayage laser, *L.S.M.*, est en effet un outil performant dans le monde de la recherche biologique et médicale. L'emploi de marqueurs fluorescents permet de localiser des composants macromoléculaires (protéines, acides nucléiques, noyau cellulaire) mais aussi de petites molécules (peptides, ions, lipides); Ce qui permet de bien discerner les noyaux.

Le principe de la microscopie confocale est de pratiquer des coupes optiques virtuelles dans l'objet observé et de n'enregistrer que l'image de la fluorescence émise dans le plan de l'objet. Ceci présente l'avantage de respecter l'intégrité de l'échantillon avec une résolution axiale et latérale bien meilleure qu'en microscopie conventionnelle. Les images numériques acquises par le système peuvent faire l'objet

³Darmstadt, Allemagne

⁴Survival fraction at 2 Gy

⁵Université Claude Bernard Lyon I

d'analyse et de quantification. Le schéma 7.1 illustre le principe du *L.S.M.* . Le matériel disponible était un microscope confocal *L.S.M.* 510 ZEISS. Il s'agit d'un microscope inversé (Axiovert 100 M) avec platine motorisée, doté de trois canaux de détection de la fluorescence. Trois lasers générant 5 raies d'excitations sont disponibles :

- Un Argon multiraies (458 / 488 / 514 nm) 25 mW
- Un Hélium-Néon 543 nm de 1mW
- Un Hélium-Néon 633 nm de 5 mW

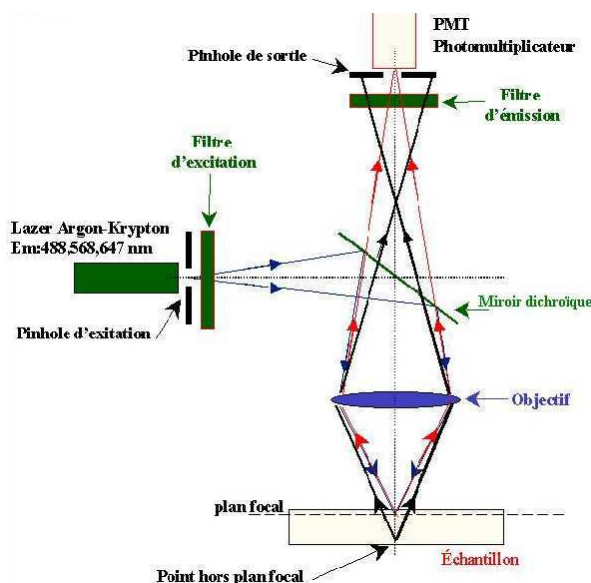


FIG. 7.1 – Schéma de principe d'un microscope confocal.

7.4.1 Fixation des cellules pour la microscopie confocale

Pour être observées au microscope, les cellules SCC61 et SQ20B sont cultivées sur des lamelles spécialement adaptées à cette technologie. Les lamelles sont placées dans des puits de culture remplis de milieu. Au bout de 72 heures, les cellules sont fixées pour l'observation au *L.S.M.* . Le protocole de fixation est le suivant :

- Préparation des fixateurs : une solution de paraformaldéhyde 2.5% est diluée au demi dans du Cacodylate 0.2M.
- Elimination du milieu de culture
- Remplacement du milieu par du fixateur qui doit recouvrir entièrement le tapis cellulaire.
- Laisser le fixateur au contact pendant 30 à 45 mn
- Eliminer le fixateur et le remplacer par du tampon Cacodylate 0.2M. Faire 3 bains de rinçage de 15 mn.
- Eliminer le dernier bain de rinçage et remettre du tampon Cacodylate 0.2M.

- Conserver les cellules à plat et maintenir l'ensemble à 4°.

Une fois les cellules fixées, il faut les perméabiliser avec du Triton afin qu'elles incorporent le marqueur du noyau cellulaire. Ce marqueur doit être fluorescent sous l'excitation du laser du *L.S.M.* . Pour nos expériences, nous avons retenu le marqueur "SYTOX[®] Green Nucléic Acid Stain" . Il s'agit d'un marqueur de l'*A.D.N.* dont le spectre d'émission de fluorescence présente un maximum aux alentours de 550 nm. La longueur d'onde d'excitation doit être comprise entre 450 et 490 nm (Laser argon-néon).

7.4.2 Mesure de la surface nucléaire d'un échantillon de cellules

Avec le microscope, nous avons réalisé une grande série d'images de multiples régions d'observations. Pour chaque région observée, des coupes frontales de 0.9 μm dans l'épaisseur du tapis cellulaire ont été visualisées et enregistrées. Ces coupes ont été ensuite reconstruites par le système informatique. A partir de la reconstruction tridimensionnelle, la coupe virtuelle passant par le plus grand diamètre de chaque noyau a été visualisée. Sur chaque image on disposait d'une centaine de noyaux. A l'aide du logiciel ANALYSIS⁶, on a repéré automatiquement les noyaux et on a déterminé ainsi leur surface. A la surface nucléaire, on a associé le rayon d'un disque de même surface. Les figures 7.2 et 7.3 représentent les histogrammes des rayons de noyaux associés aux surfaces mesurées.

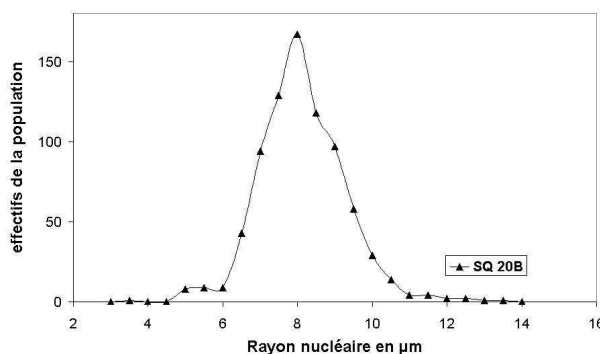


FIG. 7.2 – Histogramme des rayons nucléaires mesurés. Cas des cellules SQ20B.

⁶Soft Imaging System

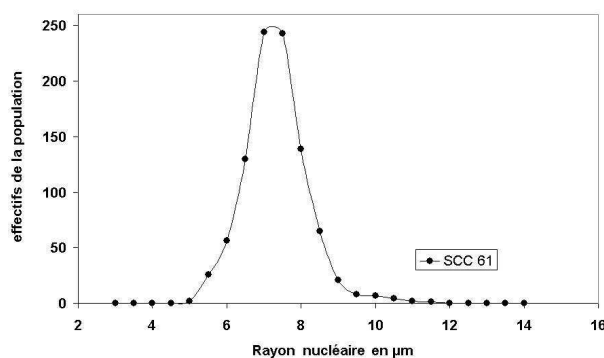


FIG. 7.3 – Histogramme des rayons nucléaires mesurés. Cas des cellules SCC61.

Le rayon moyen pour chaque lignée peut ainsi être calculé. Notre étude montre :

- Un rayon moyen de $7.1 \mu\text{m} \pm 0.8 \mu\text{m}$ pour la lignée SCC 61,
- Un rayon moyen de $7.9 \mu\text{m} \pm 1.1 \mu\text{m}$ pour la lignée SQ 20B.

7.5 Courbes de survie photons : Le protocole expérimental.

7.5.1 Préparation et comptage des cellules

Deux méthodes différentes ont été testées pour la réalisation des courbes de survie en photons. Comme nous le décrirons par la suite, lors des expériences menées avec des ions, nous avons été amené à réaliser des irradiations sur de toutes petites surfaces d'échantillon. En effet, sur les faisceaux d'ions que nous avons utilisé, la surface du champ d'irradiation est beaucoup plus petite que celle disponible avec les accélérateurs médicaux d'électrons⁷. Les dimensions réduites du champ d'irradiation se sont révélées un véritable problème pour nos expériences de radiobiologie. Si les dimensions du champ d'irradiation ne couvrent pas les plus petites boîtes de cultures du commerce (12.5 cm^2), il faut alors ensemençer les cellules sur la partie de la boîte qui sera irradiée. Il ne faut pas, de plus, que certaines cellules se trouvent en dehors du faisceau. Il faut malgré tout pouvoir compter un grand nombre de colonies pour l'établissement des courbes de survie.

Dans ce cas, la méthode dite de “ double trypsination ” a été utilisée. Cette méthode consiste à préparer, sur une petite surface de la boîte, un échantillon de cellules qui sera irradié. Ces cellules seront ensuite réensemencées, en nombre connu, dans des boîtes plus grandes pour établir le nombre de cellules survivantes (qui auront donné des colonies). L'intérêt de la méthode est de pouvoir réensemencer sur une plus grande surface et par conséquent de pouvoir compter un plus grand nombre de colonies.

Lors des expériences effectuées en salle D1 du GANIL, les dimensions du faisceau étant de l'ordre de $2.5 \times 2.5 \text{ cm}$, nous avons utilisé cette méthode de double trypsination. Pour être comparable lors des

⁷champ maximal, à 100 cm, pour un accélérateur VARIAN = $40 \text{ cm} \times 40 \text{ cm}$

expérimentations en photons, nous avons établi nos courbes de survie dans les mêmes conditions. Lorsque l'intégralité des boîtes de cultures pouvait être irradiée la méthode de simple trypsination a été utilisée. Dans ce cas, les cellules sont directementensemencées en nombre connu dans les boîtes de cultures puis irradiées. On compte enfin les colonies, au bout d'une dizaine de jours, sur les mêmes boîtes.

Méthode 1 dite “ simple trypsynation ”

Les cellules sont préparées 16 heures avant l'irradiation dans des boîtes de 12,5 ou 25 cm².

Trypsination des cellules Après avoir retiré le milieu de culture, le tapis cellulaire est lavé 2 fois avec 10 ml de PBS (Phosphate Buffered Saline) sans calcium ni magnésium. Ce lavage permet d'éliminer les cations ioniques pour un meilleur effet de la trypsination. Les cellules sont ensuite incubées à 37 ° C en présence d'1 ml de trypsine durant 2 à 4 min. La trypsination est stoppée par ajout de 7ml de milieu frais. Toutes les boîtes trypsinées sont regroupées pour le comptage.

Comptage des cellules Les cellules sont diluées au 1/2 dans du bleu de trypan⁸ et déposées sur une lame de THOMAS. Le comptage est toujours effectué en double et le calcul de la concentration des cellules se fait grâce à la formule suivante :

$$(n1 + n2) \times 10\,000 = \text{nombre de cellules} / \text{ml}$$

Ensemencement des cellules Les cellules sontensemencées dans des boîtes de 12.5 cm² ou de 25 cm². Pour chaque dose on adapte l'ensemencement. Pour plus de sécurité l'ensemencement est fait en triple autour d'une valeur moyenne. Les concentrations moyennes sont données dans le tableau 7.1 à titre d'exemple. Nous avons en effet optimisé le protocole en fonction des résultats obtenus.

⁸colorant vital permettant d'exclure les cellules mortes du comptage

TAB. 7.1 – Ensemencement des cellules SCC61 et SQ20B, en fonction de la dose, pour la réalisation des courbes de survie photons.

DOSE (Gy)	Nombre de cellules SQ 20B/boite de 25cm ²	Nombre de cellules SCC 61/boite de 25cm ²
0	200	400
0,5	200	400
1	200	600
2	250	900
3	300	1200
4	450	2500
5	600	5000
6	1000	10000
7	1500	-

Irradiation Les séances d'irradiations sont effectuées dans le service de radiothérapie du Centre Hospitalier Lyon-Sud. On utilise un faisceau de photons de 16 MV, d'indice de qualité $I=0,74$, généré à l'aide d'un accélérateur linéaire médical VARIAN 2100. Il s'agit bien entendu d'un accélérateur dédié au traitement des patients, donc parfaitement calibré et contrôlé quotidiennement. La dose totale, délivrée en une séance unique (photons d'énergie de 16 MV), se fait à un débit de dose de 2 Gy par minute. L'irradiation est effectuée avec le bras de l'accélérateur à 180° et à une distance source-boîte de 100 cm. La figure 7.4 représente le dispositif expérimental. Les flacons sont sortis de l'incubateur juste avant l'irradiation qui est faite à température ambiante. Ils sont replacés à 37°C immédiatement après.

Coloration et comptage des colonies Après irradiation, les cellules sont replacées à 37°C pendant 10 jours. Les cellules sont lavées 2 fois avec 2 ml de PBS, fixées avec 2 ml d'éthanol avant d'être colorées pendant 1 heure avec 2 ml de Giemsa dilué au 20^{ème}. Dans chaque boîte, les colonies contenant plus de 64 cellules, donc correspondantes à 6 divisions cellulaires, sont comptées.

Analyse statistique Nous avons étudié un modèle statistique pour évaluer les résultats des expériences de survie. Ce modèle (cf annexe A) nous permet de minimiser les écarts types. Toutes les expériences ont été analysées de la même façon.

Méthode dite de “ double trypsination ”

Cette méthode est celle utilisée pour la réalisation de courbes de survie au GSI, en carbone 12 de 9,8 MeV/u et en photons. C'est également la méthode que nous avons appliquée pour les irradiations que nous



FIG. 7.4 – Irradiation en photons . Accélérateur linéaire médical VARIAN 2100 CD

avons menées en salle D1 du GANIL. Cette méthode consiste à re-trypsiner les cellules irradiées avant de les mettre en culture (à concentrations choisies). Ceci s'avère très utile lorsque le champ d'irradiation est de taille réduite ce qui limite considérablement la surface où l'on va compter ensuite les colonies.

Trypsination des cellules Les cellules sont préparées 4 heures avant l'irradiation dans des boîtes de Pétri de 3 cm de diamètre pour le GSI. Notons que pour la première expérience réalisée au GANIL, avec des ions argon, cette technique a été utilisée et nous avonsensemencé nos cellules dans un cercle de 1,5 cm de diamètre directement dans des boîtes de culture de 25 cm². La trypsination se fait comme précédemment décrit et le comptage est réalisé grâce à un compteur de cellules de type Coulter.

Ensemencement des cellules pour l'irradiation Pour l'ensemencement, une goutte de 500 μ l contenant 100 000 cellules est déposée au centre des boîtes qui sont placées à 37° (jusqu'à adhérence des cellules).

Irradiation Comme nous l'avons précisé, cette technique a été utilisée lors des expériences de survie menées au GSI. Les irradiations sont faites conjointement en ions et en photons. Pour les photons, un générateur de 200 kV est utilisé.

Trypsination et réensemencement pour l'établissement des colonies Immédiatement après l'irradiation les cellules sont trypsinées à nouveau. Elles sont réensemencées aux concentrations données dans les tableaux suivants. Pour chaque boîte irradiée, 3 boîtes de 25 cm² sont ensemencées.

TAB. 7.2 – Ensemencement des cellules SCC61 et SQ20B, en fonction de la dose.. Cas de la méthode de double trypsination utilisée au GSI en novembre 2004

DOSE (Gy)	Nombre de cellules SQ20B/boîte de 25cm ²	Nombre de cellules SCC61/boîte de 25cm ²
0	150	200
0,5	150	200
1	150	250
2	200	500
3	300	1000
4	450	4000
5	1000	7000
6	2000	-

Coloration des cellules Après réensemencement, les cellules sont placées à 37 ° C pendant 10 jours. Les cellules sont lavées 2 fois avec 2 ml de PBS, fixées avec 2 ml d'éthanol avant d'être colorées pendant 30 minutes avec 2 ml de Colorant Cristal Violet. Dans chaque boîte, les colonies contenant plus de 50 cellules sont comptées.

7.6 Courbes de survie avec les particules de haut *T.E.L.*

7.6.1 Le GANIL

Le plan du GANIL est représenté sur la figure 7.5. Les faisceaux d'ions multichargés sont produits dans les injecteurs C01 ou C02, équipés de sources ECR (Electron Cyclotron Resonance), à partir de cibles gazeuses ou solides. Ils sont envoyés dans le premier Cyclotron à Secteur Séparés CSS1, qui accélère les ions à une énergie de l'ordre de 10 MeV/u. L'éplucheur a pour effet d'augmenter la charge des ions, comprise alors entre Q et Q+n, n variant de 1 à 3. Les ions de charges Q, envoyés dans l'aire expérimentale D1, sont des ions dits de moyenne énergie. Ceux de charges Q+n sont dirigés vers le deuxième Cyclotron à Secteurs Séparés, CSS2, leur énergie spécifique à la sortie de CSS2 est de l'ordre de plusieurs dizaines de MeV/u. Le faisceau est alors analysé dans le spectromètre alpha de haute résolution puis dirigé vers les salles d'expériences. Par ce dispositif le GANIL produit des faisceaux d'ions allant du carbone à

l'uranium, d'énergie pouvant atteindre 90 MeV/u pour le carbone et 24 MeV/u pour l'uranium, leur flux variant de 10^8 et 10^{13} ions/s/cm².

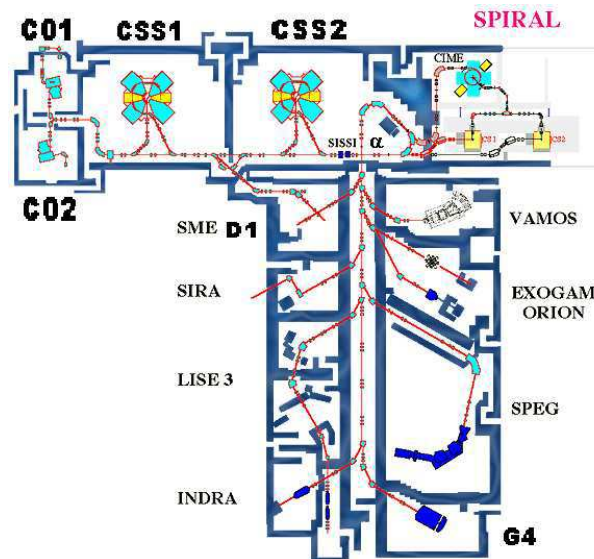


FIG. 7.5 – Le Grand Accélérateur National d'Ions Lourds implanté à Caen.

Aire expérimentale D1

Dans la salle D1, où nous avons effectué notre première irradiation (figure 7.6), se trouvent trois lignes d'irradiations. Deux d'entre elles utilisent le faisceau d'ions de moyenne énergie qui sort de CSS1. Il s'agit de la ligne IraSME (Irradiation en Sortie Moyenne Energie) destinée aux expériences de matière condensée et de la ligne dite de physique atomique. La troisième ligne, sur laquelle se sont déroulées nos expériences, est issue du spectromètre alpha et délivre des ions de hautes énergie. Un dispositif IRABAT permet de réaliser des irradiations à basse température.

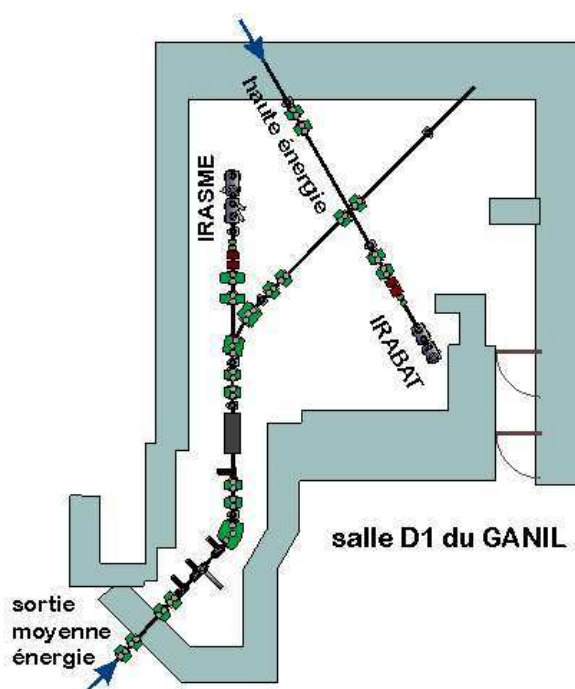


FIG. 7.6 – L'aire d'expérience D1 du GANIL.

Les dispositifs de la ligne de faisceau qui intéressent nos expériences, sur la ligne IRABAT, sont représentés schématiquement par la figure 7.7. Le faisceau d'ions, sortie de CSS1, passe par des dipôles de balayage qui permettent d'irradier une surface de $3,5 \text{ cm} \times 3,5 \text{ cm}$. Les dimensions du champ d'irradiation sont définis grâce aux fentes et le profil d'intensité du faisceau peut être analysé par la sonde de profil, constituée de deux réseaux perpendiculaires de fils conducteurs. A 45° dans le faisceau se trouve le détecteur que nous appellerons K_{α} . Il s'agit d'une feuille de zirconium d'épaisseur $2,5 \mu\text{m}$ ou $25 \mu\text{m}$, placée dans le faisceau d'irradiation. L'émission photonique secondaire de cette feuille (raie K_{α} du zirconium) est détectée à l'aide d'un photomultiplicateur. La réponse du détecteur K_{α} est calibrée par l'irradiation de feuilles de CR 39 dont le développement et la lecture donne la fluence d'ions. Une fois le détecteur K_{α} étalonné, il peut assurer le monitoring de la dose déposée, en terme de nombre d'ions délivrés. Cette ligne haute énergie de la salle D1 est également dotée d'un passeur automatique d'échantillons spécialement développé pour les expériences de biologie.

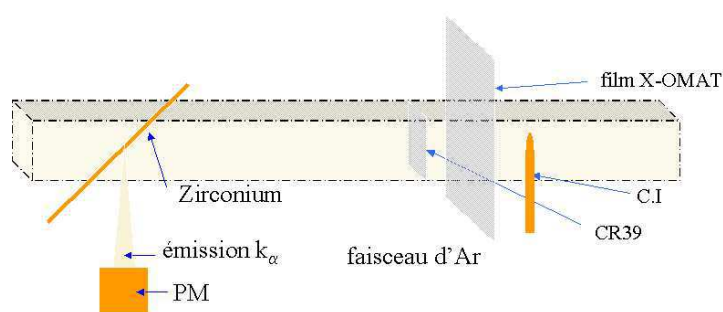


FIG. 7.7 – Dipositifs de dosimétrie. Eléments de la ligne de faisceau lors de l'expérience en salle D1

Aire expérimentale G4

L'aire expérimentale G4 est également dotée d'une ligne haute énergie. La particularité de la ligne est la dimension du champ d'irradiation qui peut atteindre $4\text{ cm} \times 40\text{ cm}$. La figure 7.8 représente schématiquement notre dispositif de dosimétrie placé à la sortie de la ligne G4. Nous disposons également sur cette ligne d'un profileur à gaz qui permet le contrôle du profil Y du faisceau en temps réel. La figure 7.9 présente l'exemple d'un profil obtenu lors des expériences. Par contre aucun dispositif en ligne ne permet le contrôle ou le monitoring de la dose déposée. Pour assurer la mise en place précise de nos échantillons nous avons réalisé un porte échantillon ajustable en hauteur pour que nos échantillons soient entièrement couverts par le faisceau.

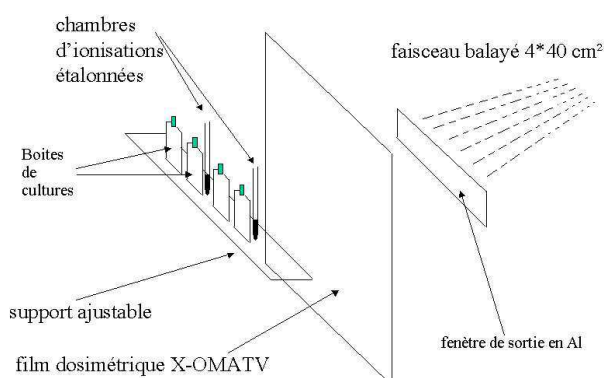


FIG. 7.8 – Dipositifs de dosimétrie. Eléments mis en place à la sortie de la ligne de faisceau lors de l'expérience réalisée en salle G4

7.6.2 Contrôles dosimétriques

Comme nous l'avons précisé précédemment (voir paragraphe 2.1 p. 35), le contrôle de la dose déposée sur les échantillons et de son uniformité est crucial pour nos expériences.

Dans toutes les expériences réalisées au GANIL nous avons procédé au contrôle de la dose délivrée

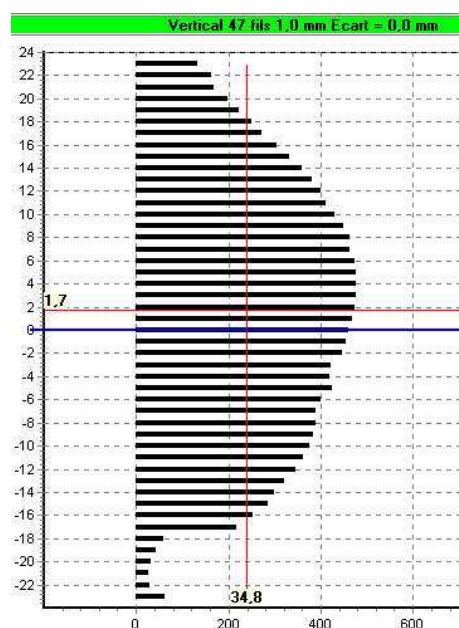


FIG. 7.9 – Profileur à gaz. Il permet de contrôler le profil Y du faisceau en salle G4

aux échantillons. La mesure de la dose absolue a été réalisée à l'aide de chambres d'ionisations étalonnées et de *CR 39*. Le contrôle de l'homogénéité a été assuré par des films radiographiques. Aucun contrôle de dosimétrie n'a été effectué pour les expériences du GSI.

7.6.3 Protocole de mesure des survies

Préparation et comptage des cellules

Pour les expériences avec les ions, les cellules sont préparées de la même façon que pour les expériences photons précédemment décrites. Seules les concentrations d'ensemencement des cellules sont différentes et adaptées en fonction de la nature et de l'énergie des ions utilisés.

Courbes de survie avec les ions carbone de 9.8 *MeV/u*

Pour ces expériences, la méthode de double trypsination est employée. Les cellules sont préparées au centre des boîtes de Pétri avant d'être irradiées.

Irradiation L'irradiation a été effectuée sur la ligne UNILAC du GSI, un passeur d'échantillon a été spécialement conçu par le GSI pour les expériences de radiobiologie.

Les boîtes de Pétri sont ouvertes et installées dans le passeur d'échantillon rempli de milieu. 19 boîtes de pétri peuvent ainsi être installées. Un bras robotisé permet de prendre les boîtes les unes après les autres et de les placer tour à tour en regard du faisceau. Les cellules collées sur le fond de la boîte se

trouvent directement soumises au faisceau. Aucune paroi n'est à traverser, ce que l'énergie du faisceau ne permettrait pas de toute façon.

Ensemencement des cellules pour les courbes de survie Après l'irradiation, les cellules sont trypsinées et réensemencées aux concentrations suivantes :

TAB. 7.3 – Ensemencement des cellules SCC61 et SQ20B, en fonction de la dose, pour la courbe de survie avec les ions carbone de 9.8 MeV/u.

DOSE (Gy)	Nb de cell. SQ20B par boîte de 25 cm^2	Nb de cell. SCC61 par boîte de 25 cm^2
0	110	150
0,5	200	260
1	300	450
1,5	550	-
2	900	1300
2,5	1400	-
3	2500	3600
4	7000	10400

Coloration et comptage des colonies

La méthode de coloration et de comptage des colonies est identique, pour les particules de haut $T.E.L.$, à celle utilisée pour les photons.

Analyse statistique

L'analyse statistique des résultats est également identique à celle décrite pour les photons.

Courbes de survie avec les ions carbone de 75 MeV/u

Ces expériences sont réalisées au GANIL, dans la salle G4, avec la méthode de simple trypsination car le faisceau de la salle G4 couvre complètement nos boîtes de cultures.

Ensemencement des cellules pour les courbes de survie Les cellules sontensemencées dans des boîtes de 12.5 cm^2 avant d'être irradiées. Le tableau 7.4 donne un exemple du nombre de cellulesensemencées.

Irradiation L'irradiation avec le carbone 13 à 75 MeV/u a été réalisée dans la salle G4 du GANIL, que nous avons présentée précédemment. Nous avons utilisé des boîtes de cultures de 12,5 cm^2 afin que le faisceau disponible les couvre entièrement.

TAB. 7.4 – Ensemencement des cellules SCC61 et SQ20B, en fonction de la dose, pour la courbe de survie avec les ions carbone de 75 MeV/u.

DOSE (Gy)	Nb de cell. SQ20B par boîte de 12.5 cm ²	Nb de cell. SCC61 par boîte de 12.5 cm ²
0	300	750
1	600	2000
2	600	3000
3	1000	20000
4	2000	50000
5	4000	-
6	10000	-

Courbes de survie avec les ions argon de 95 MeV/u

Comme pour les expériences avec les ions C_{13} , les irradiations sont effectuées au GANIL. Les cellules sont préparées dans des boîtes de 12.5cm² avant d'être irradiées.

Ensemencement des cellules pour les courbes de survie Les cellules sont préparées et ensemencées dans des boîtes de 12.5cm². Nous rappelons que la méthode de double trypsination a été utilisée en 2003 et la méthode de simple trypsination a été utilisée en 2005.

TAB. 7.5 – Ensemencement des cellules SCC61 et SQ20B, en fonction de la dose, pour la courbe de survie avec les ions Argon de 95 MeV/u.

DOSE (Gy)	Nb de cell SQ20B par boîte de 12.5cm ²	Nb de cell SCC61 par boîte de 12.5cm ²
0	200	300
1	300	1500
1.5	500	3000
2	700	5000
2.5	1500	8000
3	2000	15000
4	5000	30000

Irradiation Pour l'Argon de 95 MeV/u nous avons utilisé la salle D1 en 2003 puis la salle G4 en 2005.

7.7 Résultats

7.7.1 Etudes dosimétriques

Résultats de dosimétrie lors de l'expérience test en salle D1 avec les ions argon de 95 MeV/u (expérience N° 1)

Les expériences menées en mai 2003 dans la salle D1 du GANIL étaient des expériences préliminaires destinées d'une part à démontrer la faisabilité des protocoles établis et d'autre part à préparer nos équipes pour ce type d'expériences.

Nous avons particulièrement préparé un protocole de dosimétrie destiné à l'étude du faisceau d'irradiation et au contrôle de la dose déposée sur chaque échantillon.

Notre objectif étant de valider une méthode simple de contrôle de la dose déposée. Notre choix s'est porté vers les chambres d'ionisations pour la détermination de la dose absolue (voir paragraphe 2.5 p. 52) et vers la dosimétrie par film radiologique (voir paragraphe 2.6 p. 54) pour le contrôle, à posteriori, de la dose déposée et de son uniformité. Compte tenu du protocole de dosimétrie existant au GANIL, il nous a semblé important de valider au préalable la correspondance entre la dose mesurée par la chambre d'ionisation et la dose calculée à l'aide des comptages de traces sur des détecteurs types *CR 39*. Le montage expérimental est représenté par la figure 7.7. La fenêtre de sortie en inox, d'épaisseur 25 μm assure la transition entre le vide, dans la ligne de faisceau, et la pression atmosphérique du milieu ambiant. Avant toute irradiation il est nécessaire de calibrer la réponse du détecteur X par rapport au nombre de traces comptées sur les *CR 39*. Pour ce faire, la procédure locale est la suivante :

- Irradiation d'un premier *CR 39*. La lecture de ce *CR 39* donne le nombre de traces réelles par rapport au nombre de coups comptés par le détecteur X. On réalise ainsi un premier ajustement de la réponse du détecteur X.
- Irradiation d'un deuxième *CR 39*. Il s'agit d'affiner le réglage de la réponse du détecteur X à la fluence réelle.
- Contrôle du réglage avec un troisième *CR 39*. Une validation du réglage est effectuée par la lecture d'un troisième *CR 39*.

A partir de cette étape, la dose peut théoriquement être déterminée par la réponse du détecteur X.

La première étape de notre travail a donc consisté à valider l'utilisation de la chambre d'ionisation pour ce type d'ions. Pour cela nous avons confronté les résultats du *CR 39* et de la chambre d'ionisation.

Les comptages des traces dans le *CR 39* permettent de déterminer la fluence en particules par cm^2 . Connaissant la fluence on détermine la dose délivrée par l'application de la relation :

$$D = F \times L.E.T \times \frac{1}{\rho} \times 1,6 \times 10^{-9} \quad (7.1)$$

Deux techniques de comptage sont comparées :

Un premier comptage a été réalisé sur place avec les outils disponibles au GANIL : Un microscope couplé à une caméra CCD permet de prendre des images des plaques de *CR 39*. Sur chacune des images on applique un logiciel “ maison ” de reconnaissance de traces. A partir d’une dizaine d’images (soit plus de 1000 traces) on détermine la fluence moyenne par cm^2 .

Un deuxième comptage a été effectué à l’IPNL à l’aide des tables de scan de l’expérience OPERA. Les comptages sont entièrement automatisés et le balayage de la plaque de *CR 39* permet de compter un plus grand nombre d’images (environ 10 000 traces). La figure 7.10 représente la dose calculée à partir des traces dans le *CR 39* en fonction de la dose monitorée par le détecteur X.

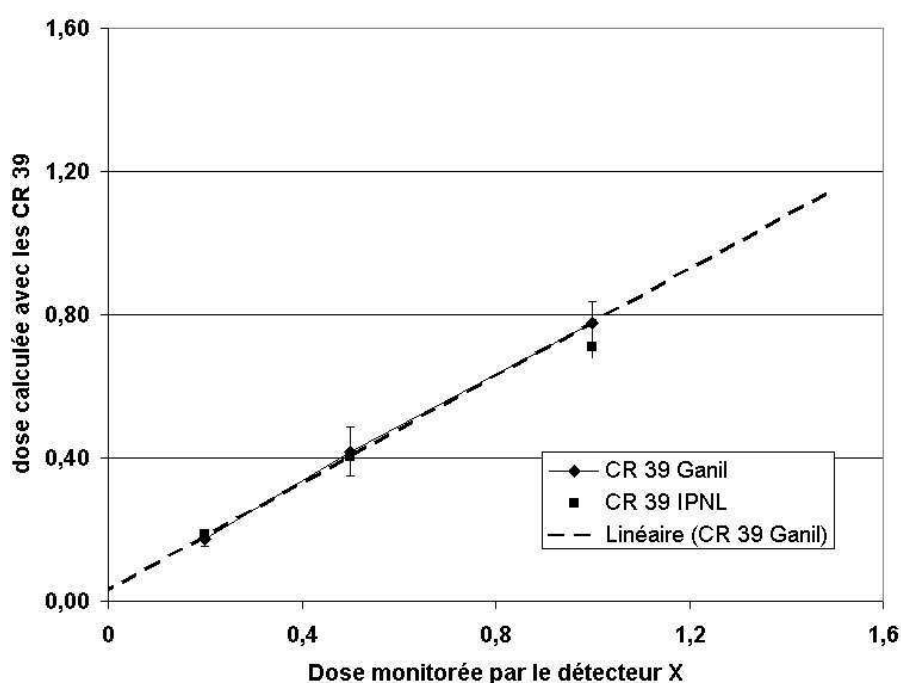


FIG. 7.10 – Dose monitorée par le détecteur X et dose calculée à l’aide de détecteurs de traces. Cas des ions Ar de 95 MeV/u

On constate que bien qu’un étalonnage du détecteur X ait été réalisé au préalable, la dose calculée par comptage sur des *CR 39* est systématiquement inférieure à la dose attendue. Il s’agit vraisemblablement d’un problème de calibration du détecteur X. Sur la figure 7.11 on représente la dose déterminée par la chambre d’ionisation et la dose calculée à l’aide des *CR 39*, comparée avec la dose attendue (monitorée par le détecteur X).

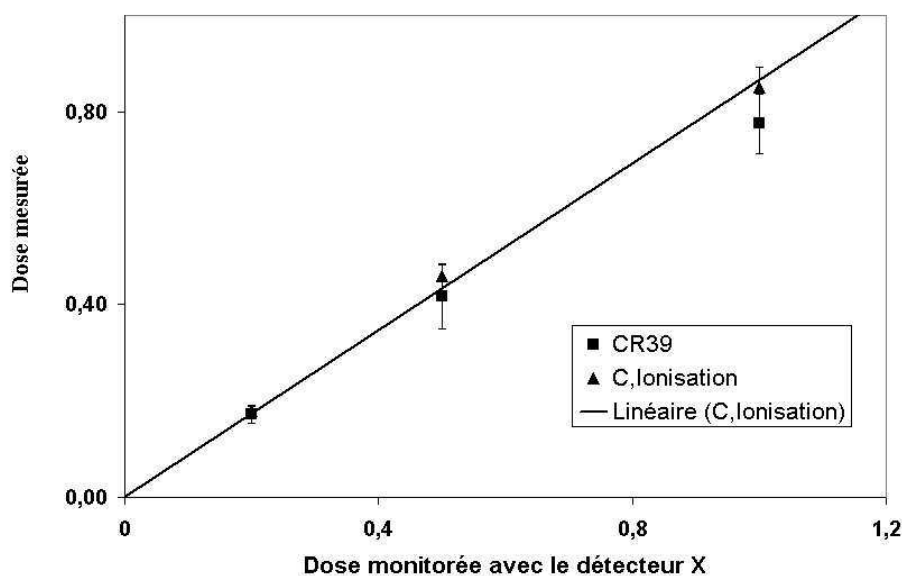


FIG. 7.11 – Dose déterminée par chambre d'ionisations et dose calculée à l'aide de détecteurs de traces. Cas des ions Ar de 95 MeV/u

D'après la figure 7.11 nous remarquons que la mesure par chambre d'ionisation est en bonne concordance avec les mesures effectuées à l'aide de CR 39. Ces premiers éléments ont confirmé la possibilité d'utiliser une chambre d'ionisation pour la détermination de la dose absorbée dans le faisceau d'Argon 36 à 95 MeV/u. La dose déterminée par les comptages de traces sur les CR 39 est environ 6% plus faible que la dose mesurée par la chambre d'ionisation. Les travaux de Fukumura (Fukumura, T., Omata, Takeshita, et al. 1998) montrent une différence comparable entre la dose déterminée par des CR 39 et la dose mesurée par la chambre d'ionisation.

Dans une deuxième étape, nous avons calibré la réponse des films X-OMAT V en fonction de la dose délivrée. La dose délivrée étant déterminée par la chambre d'ionisation. La figure 7.12 représente la calibration en dose des films X-OMAT V.

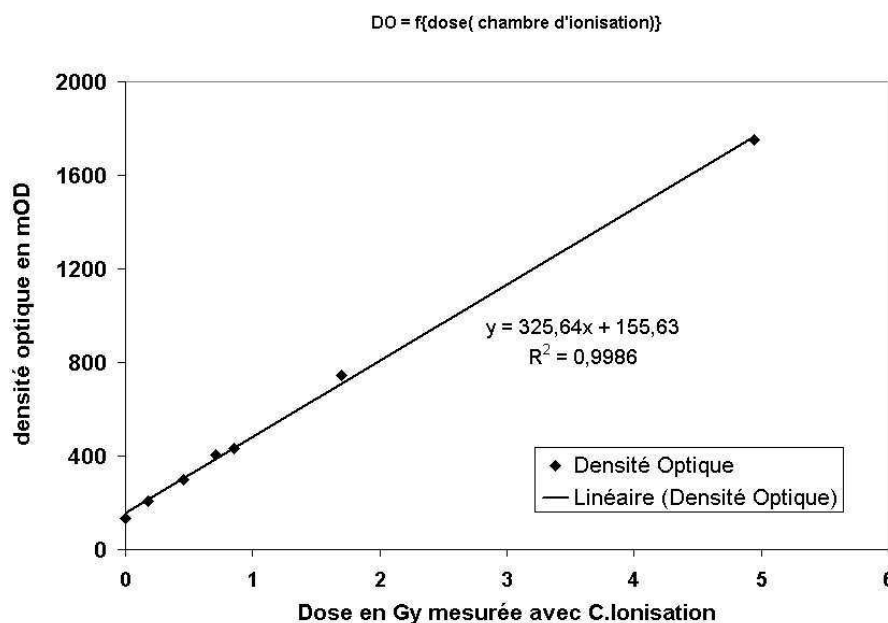


FIG. 7.12 – Calibration en dose des films X-OMATV. La dose délivrée en Ar de 95 MeV/u est mesurée par chambre d'ionisation

Comme c'est le cas avec les photons, la réponse (en densité optique) des films X-OMATV est linéaire en fonction de la dose déposée. On note cependant que la saturation obtenue en photons aux alentours de 150 cGy, pour ce type de film, n'est pas observée avec les ions Argon. Il semble que le noircissement des films soit moins important avec les ions qu'avec les photons. Il est avéré (Spielberger, Kraemer, et Kraft 2003) que la pente de la réponse des films radiographiques en fonction de la dose délivrée est moins élevée avec un faisceau d'ions qu'avec un faisceau de photons.

Ces premiers résultats montrent que les films X-OMATV peuvent être utilisés pour mesurer la dose déposée sur les échantillons. L'autre intérêt des films est la possibilité d'obtenir une information bidimensionnelle sur le faisceau d'irradiation. Pour cela nous avons utilisé le numériseur de film VXR 12 et le logiciel d'analyse RIT 113⁹. L'analyse d'un faisceau d'irradiation est montrée par la figure 7.13.

⁹Radimage distribué par View Tech

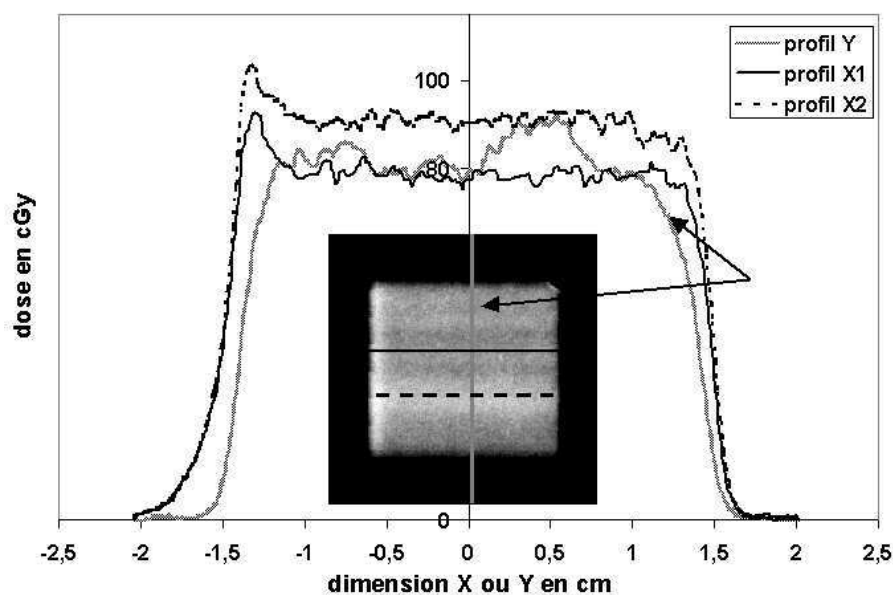


FIG. 7.13 – Contrôle de l’homogénéité du faisceau d’Ar à 95 MeV/u par films radiographiques. Cas de la salle D1 du GANIL

On constate la présence de bandes sombres et claires sur les films qui correspondent à des zones de sous dosage et surdosage. L’homogénéité du faisceau d’irradiation n’est pas conforme à celle d’un faisceau utilisé en “clinique”¹⁰. Sur le faisceau d’Argon, on distingue des hétérogénéités de l’ordre de 15%.

L’étalonnage de la réponse en dose des films X-OMATV nous permet également de contrôler à posteriori la dose déposée sur nos échantillons biologiques. Ceci est important car du fait de la géométrie du système (petites dimensions du champ d’irradiation) il n’est pas possible de placer dans le faisceau notre chambre d’ionisation en même temps que les échantillons.

¹⁰homogénéité +/- 3% sur 80% du champ

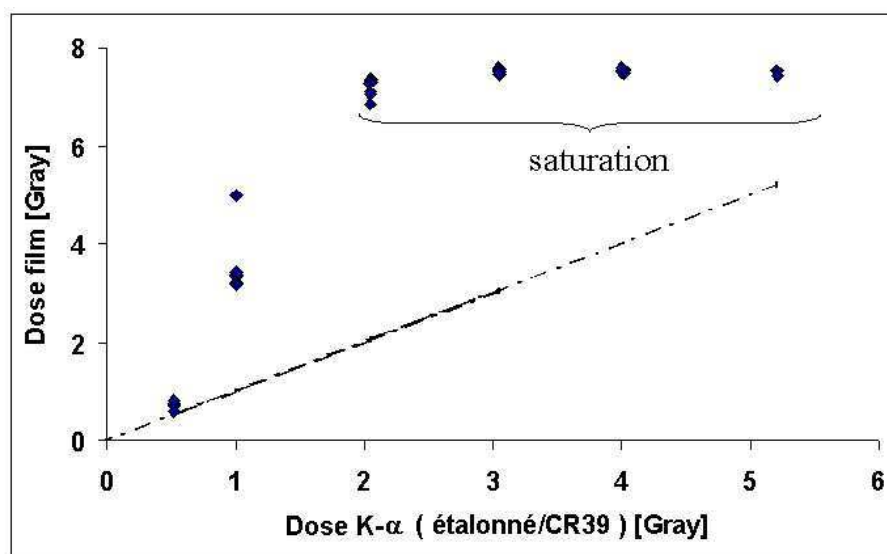


FIG. 7.14 – Contrôle de la dose déposée sur les échantillons biologiques. La droite en pointillée représente la dose demandée. Les points représentent la dose déterminée à l'aide des films radiographiques placés devant les échantillons biologiques

La figure 7.14 montre la relation entre la dose lue sur les films et la dose demandée (monitorée par le détecteur X). On constate que la dose mesurée par les films (points expérimentaux) est largement supérieure à la dose demandée (trait pointillé). Seul le point 0,5 Gy semble conforme à ce qui avait été demandé.

Ces résultats nous ont considérablement surpris mais ont démontré la nécessité de contrôler la dose déposée sur les échantillons biologiques. En effet, sans ces contrôles, nous serions passés à côté de cette erreur sur la dose déposée, ce qui aurait pu nous conduire à une mauvaise interprétation des résultats de radiobiologie.

Ces premiers résultats mettent également en évidence un problème dans le contrôle de la dose déposée. En effet, les résultats obtenus lors de l'étalonnage des films ont montré une relation parfaitement linéaire entre la dose monitorée par le détecteur X et la dose obtenue par les films radiographiques. Or la figure 7.14 montre une importante saturation des films pour une dose (monitorée par le détecteur X) bien inférieure au seuil de saturation. L'analyse des fichiers d'irradiation nous montrera que le débit de fluence a été modifié pour les irradiations à des doses supérieures à 0,5 Gy. La réponse des films en fonction du débit de dose peut bien entendu être mis en doute. Il nous semble cependant plus pertinent, pour expliquer les écarts (d'un facteur 3) entre la dose déterminée par les films radiographiques et celle déterminée par le détecteur X d'étudier la réponse du détecteur X en fonction du débit de dose (hypothèse soutenue par les mesures de survie correspondantes). C'est ce que nous avons proposé dans une nouvelle demande d'expérience dédiée à la dosimétrie, qui a été acceptée par le comité d'expérience et que nous présentons dans le paragraphe suivant.

Résultats complémentaires de dosimétrie en salle D1 avec des ions C_{13} de 75 MeV/u (expérience N° 2)

Pour compléter les résultats obtenus en mai 2003, une expérience dédiée à la dosimétrie nous a été accordée lors du comité d'expérience du 22 Octobre 2003. Les mesures ont été effectuées en juin 2004. L'objectif principal était de déterminer les causes de la sur-exposition de nos échantillons en mai 2003. Pour cela nous avons conduit une étude de la réponse du détecteur X en fonction de la réponse de la chambre d'ionisation. Nous avons étudié la réponse de 2 feuilles de Zirconium d'épaisseur 2,5 et 25 μm .

Le graphique 7.15 présente les résultats de l'étude. On étudie en fait le rapport, $X_{Zr}/C.I.$, du nombre de coups renvoyé par le détecteur X sur la dose mesurée par la chambre d'ionisation en fonction du débit de dose en Gy/min

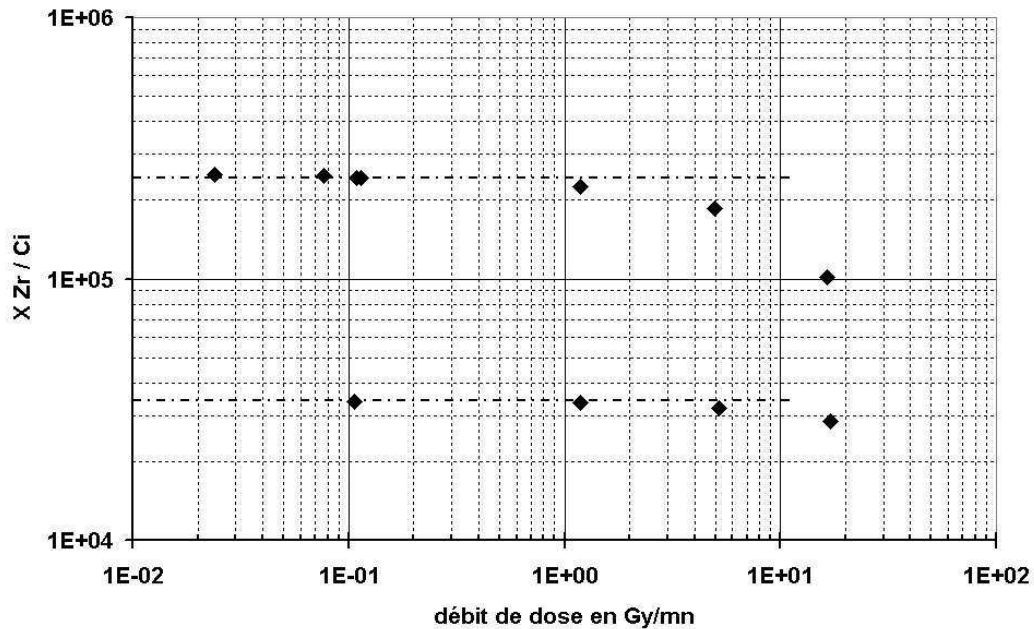


FIG. 7.15 – Etude de la réponse du détecteur X en fonction du débit de dose. Cas d'une feuille de Zirconium de 2,5 μm et 25 μm d'épaisseur

Nous constatons :

- Une réponse plus élevée avec une feuille de 25 μm qu'avec une feuille de 2,5 μm .
- Une zone de stabilité du rapport ($X_{Zr}/C.I.$) en coups par Gray.
- Une zone de saturation, pour les deux feuilles de Zirconium.

La figure 7.16 représente le nombre de coups par seconde, comptés par la chaîne d'acquisition associée au détecteur X, en fonction du débit de dose pour deux épaisseurs de feuille de Zirconium.

Cette saturation survient aux alentours de 7000 coups/s ce qui correspond à environ 5×10^6 ions/s/cm². A ce taux d'événements, la chaîne d'acquisition associée présente un temps mort pénalisable qui fait que

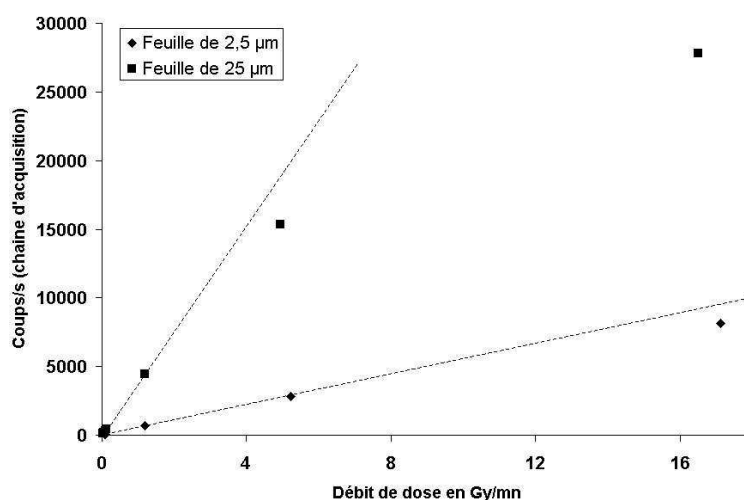


FIG. 7.16 – Réponse, en coups par seconde, associée au détecteur X en fonction du débit de dose. Cas d'une feuille de Zirconium de 2.5 μm et 25 μm d'épaisseur

l'efficacité passe en dessous de 50%. Ce temps mort est du :

- Principalement au convertisseur analogique numérique (150 μs),
- Au transfert de données par BUS CAMAC.

Ces résultats confirment nos hypothèses concernant un problème dans la linéarité de réponse de la chaîne de mesure associée au détecteur X. Il s'avère que cette chaîne de mesure sature pour des débits de dose proches de ceux utilisés dans les expériences de radiobiologie. Cette saturation est d'autant plus sensible que la feuille de Zirconium est épaisse.

Au cours de cette nouvelle expérience, nous avons également testé l'utilisation d'un autre type de filmradiographique : les films EDR2.

La réponse de ces films, par rapport aux films X-OMAT V, est présentée dans la figure 7.17. On trace la densité optique (OD) lue sur les films, exprimée en Milli-OD en fonction de la dose délivrée.

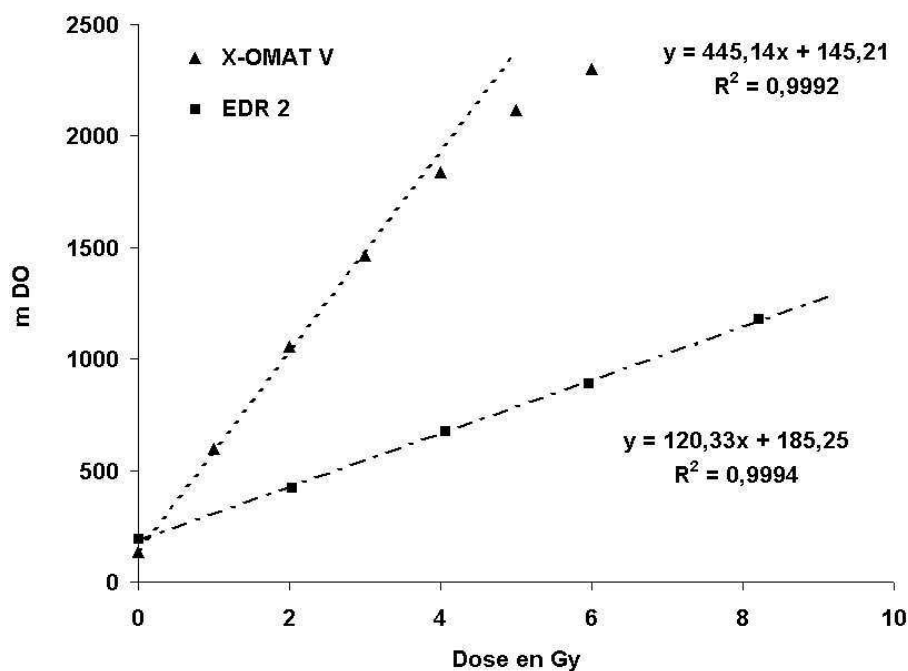


FIG. 7.17 – Etude de la réponse des films radiographiques EDR 2 et X-OMAT V en fonction de la dose.

Comme c'est le cas en photons, les films EDR 2 sont moins sensibles que les films X-OMAT V. Il semble qu'ils puissent être utilisés jusqu'à des doses supérieures à 10 Gy avec notre faisceau de C^{13} de 75 MeV/u.

Résultats de dosimétrie en salle G4 (expérience N° 3)

Du fait des dimensions réduites du champ d'irradiation en salle D1, qui ne couvre pas la totalité des boîtes de cultures, nous avons souhaité utiliser la salle G4 du GANIL où les dimensions du faisceau balayé sont nettement plus importantes et atteignent 4 cm × 40 cm. La figure 7.8 représente le montage expérimental. Aucun dispositif ne permet le contrôle en ligne de la dose déposée. En conséquence, nous avons positionné en permanence deux chambres d'ionisations dans le faisceau qui permettent de monitorer manuellement la dose déposée et assure un premier niveau de contrôle de l'homogénéité sur le plan X (dans la plus grande dimension du champ).

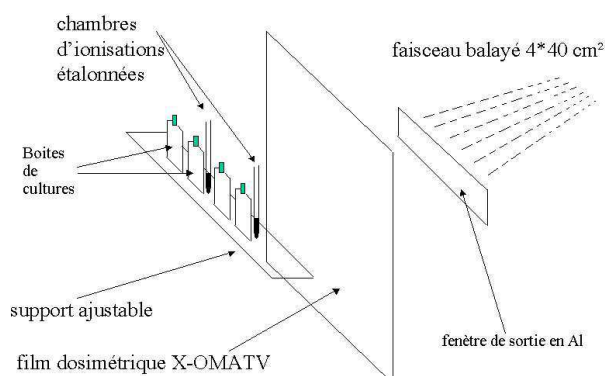


FIG. 7.18 – Montage expérimental dans la salle G4.

Après l'étalonnage des films, nous avons contrôlé la dose déposée sur tous nos échantillons. La figure 7.19 représente un exemple de la distribution de la dose dans le faisceau d'irradiation (sur les plans X et Y).

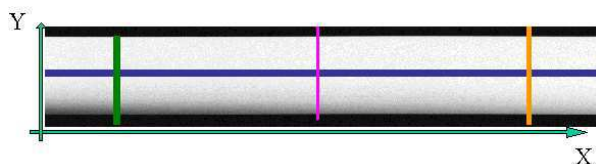


FIG. 7.19 – Distribution de la dose en salle G4.

A partir de cette distribution de dose bidimensionnelle, les profils du faisceau ont été extraits et sont représentés par la figure 7.20. En ordonnée, est représentée la dose normalisée à 100% au point de référence (en regard de la chambre d'ionisation) et en abscisse, la position sur l'axe du faisceau en cm. On constate :

- Le champ d'irradiation n'est pas homogène sur $4\text{ cm} \times 40\text{ cm}$.
- Une augmentation de la dose déposée à droite du faisceau. la différence de dose entre un point à droite du faisceau et un point à gauche est de l'ordre de 20 %.
- Sur le profil Y, seulement 2.5 cm sont couverts par une dose supérieure à 95 % de la dose normalisée.

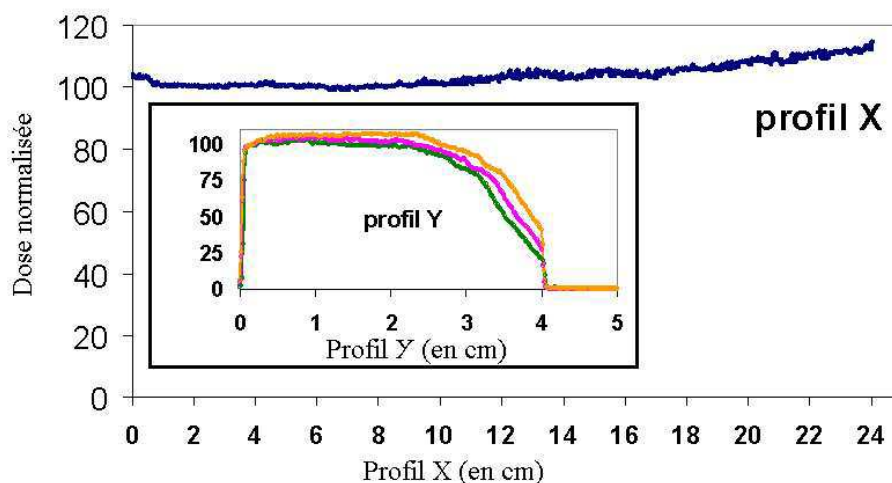


FIG. 7.20 – Profils de dose en salle G4 obtenus par numérisation des films X-OMAT V.

A la vue de ces résultats, qui sont parfaitement confirmés par nos échantillons biologiques (présence d'une bande de cellules non ou peu exposées en bas de chaque boîte), nous avons décidé de n'exploiter, dans les boîtes de culture contenant les colonies, que la partie soumise à une irradiation homogène. C'est à dire que nous avons sélectionné dans la boîte la région où la dose était systématiquement supérieure à 95 % de la dose sur l'axe.

Résultats de dosimétrie en salle G4 (expérience N° 4)

Une autre expérience de mesure de survie a été conduite en avril 2005 dans la salle G4 du GANIL. Le montage expérimental était identique à celui de l'expérience précédente dans cette salle (voir figure 7.8). Les ions Ar^{36} de $95\text{ MeV}/u$ ont été utilisés. La figure 7.21 montre le profil obtenu avec le faisceau d'ions Argon de $95\text{ MeV}/u$. On constate que le profil est un petit peu meilleur que celui de l'expérience précédente. Il n'y a pas de zone complètement privée d'irradiation même s'il ne subsiste que 40 % de la dose sur l'axe. Biologiquement, ce résultat était également confirmé : les bandes de colonies très denses en bas de chaque boîte avaient disparu. Pour nos courbes de survie, nous avons exploité l'intégralité de la boîte de culture.

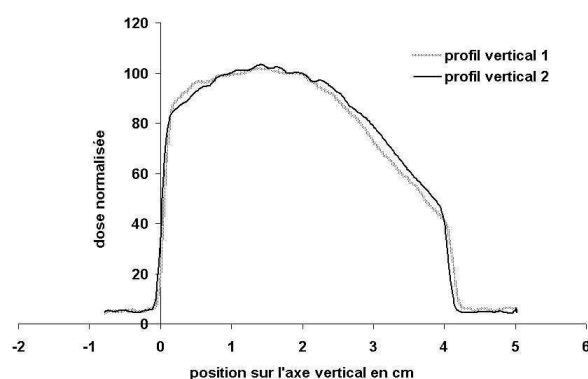


FIG. 7.21 – Profils de dose en salle G4 obtenus par numérisation des films X-OMAT V. Cas des ions Ar^{36} de 95 MeV/u

7.7.2 Conclusion des expériences de dosimétrie

Pour nos expériences de survie cellulaires, nous avons établi un protocole rigoureux de contrôle de la dose déposée sur nos échantillons et de son uniformité. Les résultats présentés montrent la faisabilité de ce protocole dans l'environnement du GANIL. La chambre d'ionisation se révèle comme l'outil de référence pour la métrologie de la dose, par sa simplicité et sa rapidité d'utilisation. Les films radiographiques, permettent de contrôler à posteriori la dose déposée. Ils permettent également un contrôle de l'uniformité du faisceau avant et pendant les expériences. Ces contrôles nous ont permis de mettre en évidence un problème dans le contrôle de la dose déposée sur nos échantillons en fonction du débit de dose utilisé. L'ensemble tend à démontrer que dans le but de réaliser des courbes de survie ou, encore plus largement de pratiquer des expériences de radiobiologie, il convient de s'assurer de la qualité du faisceau d'irradiation et de contrôler précisément la dose déposée et son uniformité. Le risque est en effet de donner une mauvaise interprétation aux résultats de radiobiologie à cause d'une erreur de dosimétrie. Ceci peut être évité par l'utilisation de films radiographiques, par exemple, qui permettent de connaître, à posteriori, la dose reçue par chaque échantillon.

7.7.3 Courbes de survie cellulaire

Courbes photons pour la lignée SCC61

Comme nous les avons décrites précédemment, les courbes de survie représentent :

- En ordonnée la survie cellulaire
- En abscisse la dose délivrée aux cellules

Ces courbes de survie s'étendent sur plusieurs ordres de grandeur et l'échelle logarithmique est nécessaire pour une bonne représentation. Avec un tableur Excel, il est difficile de réaliser un ajustement aux points expérimentaux avec un modèle exponentiel, par conséquent nous avons décidé de ne pas représenter

directement la survie mais plutôt :

- En ordonnée, le logarithme de la survie¹¹, en fait, $(-\ln(S))$,
- En abscisse, la dose délivrée.

Avec cette représentation, et en reprenant l'interprétation statistique de la création d'événements létaux (modèle statistique de poisson), nous représentons le nombre d'événements létaux en fonction de la dose délivrée. L'ajustement aux points expérimentaux devient alors de type polynomial d'ordre 2, très facilement paramétrable sur un logiciel Excel.

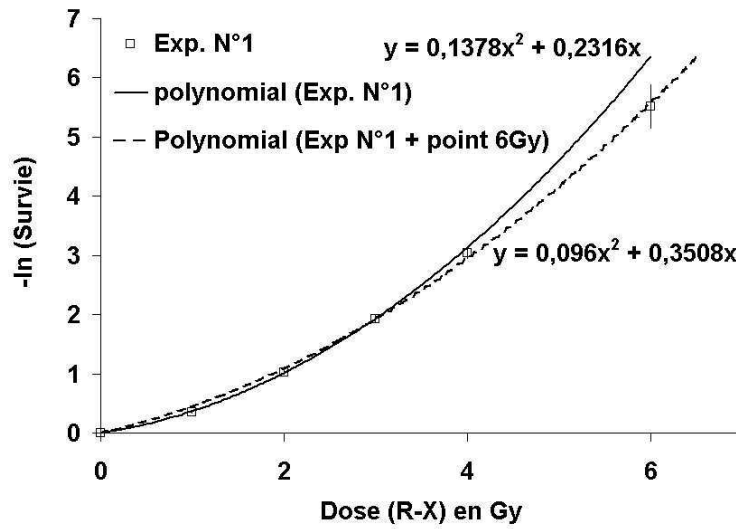


FIG. 7.22 – Courbes de survie photons, mesurées avec des cellules SCC61. Expérience N°1

La figure 7.22 représente le nombre d'événements létaux observés en photons pour la lignée SCC61 par le laboratoire de radiobiologie de l'EA 3738. Ces expériences n'ont pas été réalisées récemment, de ce fait il nous a été difficile d'estimer les barres d'erreurs statistiques. Ne connaissant pas exactement le protocole il est également difficile d'évaluer la pertinence de ces résultats. Cependant, ces premières courbes nous ont servi de base au début de nos travaux. Elles nous ont permis de faire nos premières simulations avec notre *L.E.M.* "maison". Nous avons également utilisé ces résultats pour définir, par les prédictions du *L.E.M.*, les ensemencements pour les expériences tests que nous avons menées en mai 2003 au GANIL avec les ions Argon. Par ailleurs, ces courbes nous enseignent :

- Que l'on observe un comportement en $\alpha D + \beta D^2$ aux doses inférieures ou égales à 4 Gy. Au delà de 4 Gy, on peut penser que l'on revient à un modèle linéaire identique à celui de Scholz et al. (voir paragraphe 5.3.1 p. 110). Nous pouvons également penser que les incertitudes sur les points expérimentaux peuvent expliquer l'écart par rapport à la loi polynomiale de degré deux.
- Que l'on observe également que l'estimation des coefficients α et surtout β dépendent fortement de la position des points expérimentaux ou de l'exclusion éventuelle de points douteux. Nous représentons

¹¹il s'agit du nombre d'événements létaux

comme exemple dans la figure 7.22 deux courbes de tendance obtenues pour les mêmes points expérimentaux en excluant ou pas le point à 6 Gy. Le paramètre α augmente alors d'environ 50% et le paramètre β diminue de 30%.

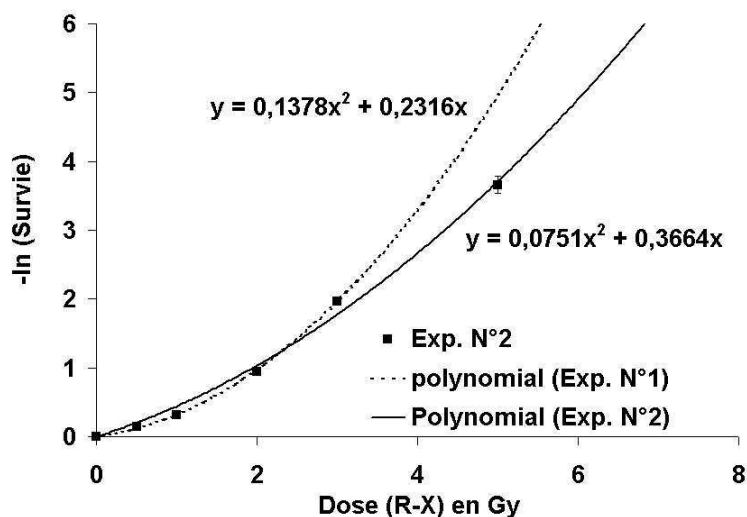


FIG. 7.23 – Courbes de survie des cellules SCC61 avec ajustement polynomial d'ordre 2. Comparaison avec l'ajustement de l'expérience 1

La figure 7.23 représente une deuxième expérience réalisée par le laboratoire de radiobiologie. Les résultats observés sont extrêmement différents. Pour mieux comprendre la réalisation des courbes de survie, nous avons participé directement à de nouvelles expériences en photons.

La figure 7.24 représente les mesures de survie que nous avons réalisées avec le protocole dit “de simple trypsination”, proche de celui utilisé dans le cadre des irradiations du GANIL. Soulignons en particulier le fait que les boîtes de cultures sont de petites tailles, 12.5 cm^2 ce qui accroît l'erreur statistique sur l'ensemble de l'expérience.

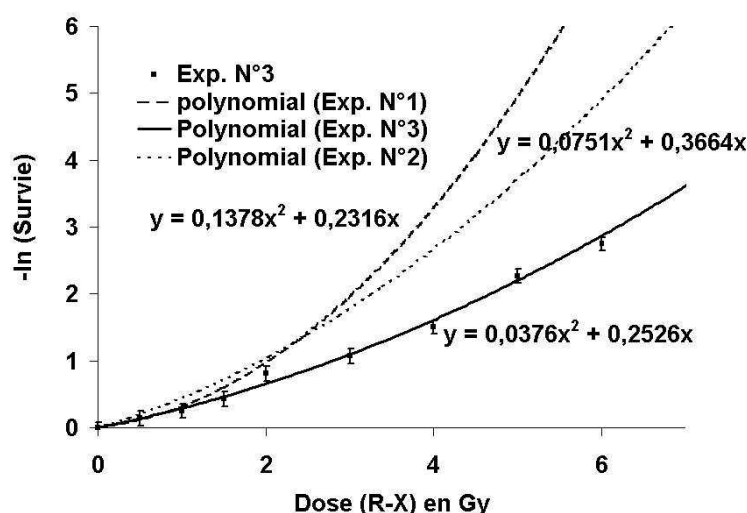


FIG. 7.24 – Courbes de survie des cellules SCC61 avec ajustement polynomial d'ordre 2. Comparaison avec les ajustements des expériences 1 et 2

Le fait d'utiliser de petites boites nous est imposé par les conditions d'irradiations du GANIL. Cela entraine un travail expérimental plus important et augmente le coût matériel. Pour rester raisonnable, tant en nombre de boites qu'en coût, la conséquence est l'augmentation des barres d'erreurs statistiques de $\pm 14\%$ pour un taux de confiance de 95 %. Notons que l'estimation des barres d'erreurs, développée dans l'annexe (cf annexe A), est cohérent avec les fluctuations observées par rapport à l'ajustement. Pour une courbe de survie donnée, améliorer les résultats passe par la diminution de la barre d'erreur statistique ce qui passe par l'augmentation du nombre de cellulesensemencées, soit encore l'augmentation du nombre de boites irradiées. Comparons cette courbe avec les deux précédentes. On remarque que les résultats sont extrêmement différents. La lignée semble beaucoup plus résistante dans cette expérience. Précisément, si l'on observe les ajustement avec un polynôme d'ordre deux on remarque que par rapport à l'ajustement numéro 1 de l'expérience 1 le paramètre α évolue de seulement 10 % tandis que le paramètre β diminue de 72%. Par rapport à l'ajustement numéro deux de l'expérience 1, α évolue de 45% et β évolue d'un facteur 2. Les points déterminés à faibles doses ($\leq 2 \text{ Gy}$) semblent donc assez cohérents sur ces deux expériences

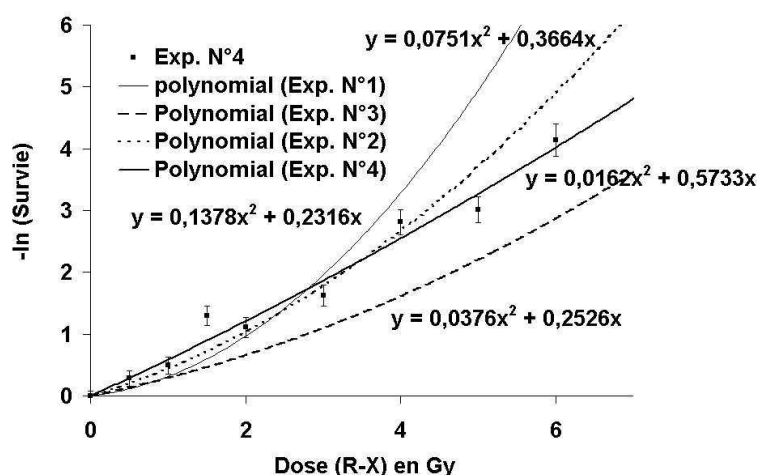


FIG. 7.25 – Courbes de survie des cellules SCC61 avec ajustement polynomial d'ordre 2. Comparaison avec les ajustements des expériences 1, 2 et 3

La figure 7.25 représente les résultats obtenus au cours de l'expérience 4. On observe la encore que notre estimation de l'erreur "colle" assez bien avec les écarts observés entre les points expérimentaux et la courbe de tendance. A nouveau la courbe de tendance est clairement différente. On note en particulier une très faible valeur de β (environ dix fois moins) ce qui donne à la courbe $(-\logarithme(S))$ une expression quasi linéaire. Ces résultats nous paraissent étranges et doivent nous pousser à remettre certains points en question. Deux hypothèses sont à envisager :

- L'une sur la stabilité de la lignée cellulaire,
- l'autre sur la reproductibilité de l'expérience.

On peut en particulier soupçonner un protocole expérimental pas assez précis. Cependant, une explication plus simple peut être trouvée sur le plan mathématique. En effet, étant données les barres d'erreurs statistiques, il est totalement déraisonnable de tenter d'ajuster les points expérimentaux sur une courbe de tendance de forme parabolique (ou plus généralement avec deux paramètres). Pour illustrer ceci, si on supprime les points 1.5, 5 et 6 Gy on obtient un ajustement pratiquement identique à celui de l'expérience numéro deux.

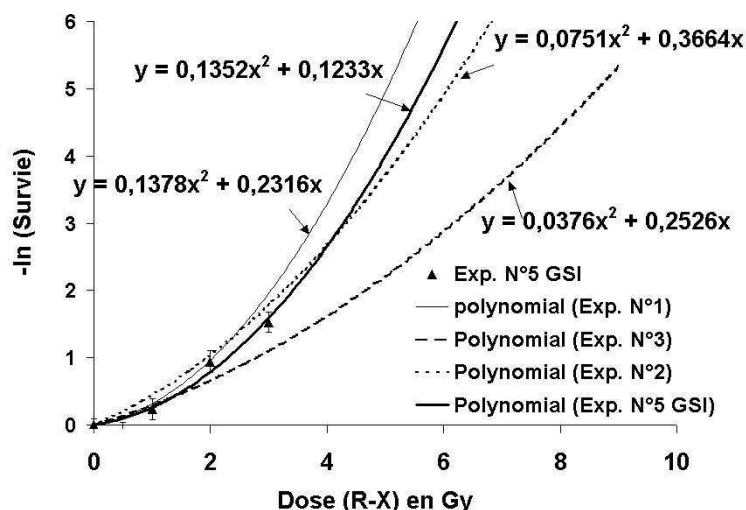


FIG. 7.26 – Courbes de survie des cellules SCC61 déterminées au GSI avec ajustement polynomial d'ordre 2. Comparaison avec les ajustements des expériences 1, 2, 3

La figure 7.26 représente les mesures de survie, réalisées au GSI avec un générateur X de 200 kV qui n'est pas utilisé en clinique. Le protocole expérimental est celui de la double trypsination en rapport avec les expériences d'irradiations aux ions carbone de 9.8 MeV/u. On obtient des résultats qui paraissent visuellement assez en rapport avec les expériences 1 et 2. Cependant, des différences encore très conséquentes sont à noter sur les valeurs de α et β .

Courbes photons pour la lignée SQ20B

Pour la deuxième lignée cellulaire étudiée, nous ne détaillerons pas tous les résultats. Nous retiendrons cependant la figure 7.27 qui représente, comme pour la lignée SCC61, les résultats d'une expérience antérieure sur lesquels nous avons effectué nos simulations de survie.

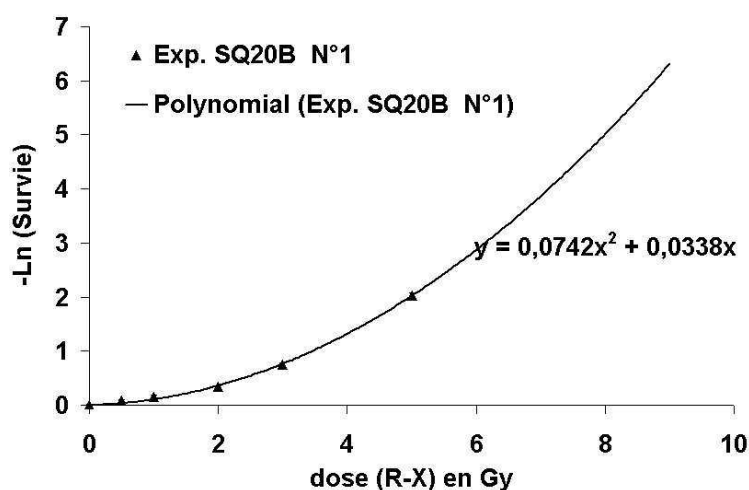


FIG. 7.27 – Courbes de survie des cellules SQ 20B avec ajustement polynomial d'ordre 2.

On remarque que l'ajustement polynomial d'ordre 2 représente correctement les données. Les barres d'erreurs statistiques sont de l'ordre de grandeurs des points représentés. Il est important de noter l'absence de points expérimentaux aux fortes doses ce qui rend l'ajustement incertain.

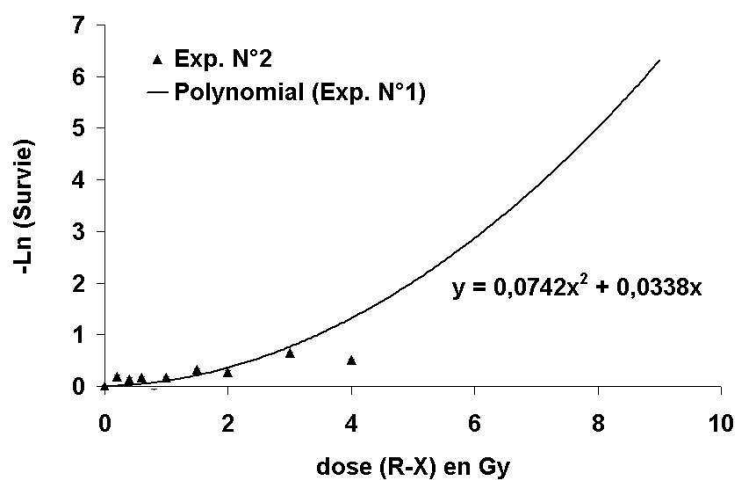


FIG. 7.28 – Points expérimentaux d'une deuxième expérience de survie cellulaire SQ 20B. Comparaison avec l'ajustement de l'expérience 1

La figure 7.28 représente les points expérimentaux d'une deuxième expérience avec l'ajustement polynomial de l'expérience N° 1. Il semble que les points expérimentaux obtenus pour les faibles doses soient en bon accord avec les données de la première expérience. Toutefois, on observe une divergence sensible pour le point 4 Gy. Encore une fois il serait intéressant de disposer de points pour des doses plus élevées.

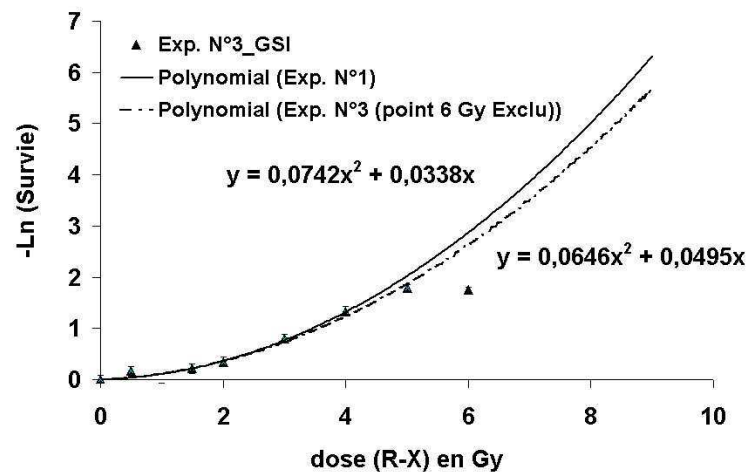


FIG. 7.29 – Courbes de survie des cellules SQ 20B avec ajustement polynomial d'ordre 2. Comparaison avec l'ajustement de l'expérience 1

La figure 7.29 représente les points expérimentaux obtenus lors d'une expérience menée au GSI. Il s'agit, comme pour la lignée SCC61 d'une expérience réalisée avec un générateur X de 200 KV. Les résultats présentés sont visuellement en bon accord avec les points expérimentaux de l'expérience N°1 si on ne considère pas le point 6 Gy. Le point 6 Gy présente un nombre d'événements létaux identiques au point 5 Gy ce qui paraît peu probable. Nous avons décidé d'écarter ce point.

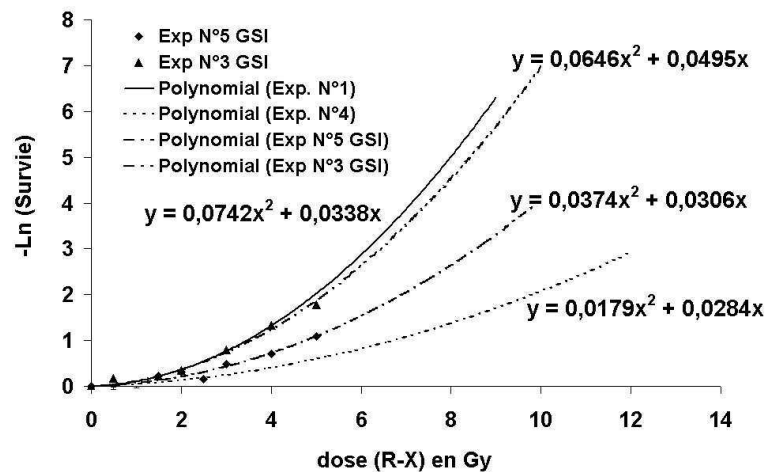


FIG. 7.30 – Courbes de survie des cellules SQ 20B, réalisées au GSI, avec ajustement polynomial d'ordre 2. Comparaison des expériences photons SQ 20B

La figure 7.30 présente une compilation des expériences menées sur la lignée SQ20B. Il est très important de noter la différence observée entre les deux courbes de survie établies au GSI dans les mêmes conditions. On peut globalement estimer une variation de β d'un facteur 2 et 60% de variation sur α .

Si on observe l'ensemble des données, l'écart est encore plus important. On constate ainsi un écart d'un facteur 4 entre les valeurs extrêmes de β et un facteur 1.7 entre les valeurs extrêmes de α .

Conclusion sur les expériences en photons

Cette compilation de données avait pour but de bien souligner les écarts entre les différentes expériences effectuées avec différents expérimentateurs. Il semble qu'à l'exception de l'expérience numéro trois, pour la lignée SCC 61, les divergences entre les courbes de tendance s'expliquent par les incertitudes expérimentales.

L'estimation des barres d'erreur, qui intègre les fluctuations purement statistiques dues à l'ensemencement, au processus de mort cellulaire, à la probabilité d'adhérence est cohérent dans chaque cas avec les écarts observés entre les points expérimentaux et les courbes d'ajustement. Autrement dit, une amélioration très sensible de la qualité des résultats devra passer par une réduction de ces barres d'erreurs statistiques. Enfin, nous avons pu noter que ces résultats rendent impossible une estimation fiable des coefficients α et β . Pourtant d'après l'étude théorique du modèle *L.E.M.* (voir paragraphe 6.4.4 p. 151 et voir paragraphe 6.6.3 p. 157) nous avons démontré l'importance particulière du paramètre β . Tout aussi importante est la valeur de D_{seuil} qui ne peut être obtenue qu'avec des points expérimentaux au delà de 10 à 30 Gy. Nous n'avons jamais obtenu de résultats significatifs pour de telles doses. Les colonies sont alors fortement hétérogènes en taille ce qui rend l'établissement des courbes de survie très difficile. Une autre difficulté est le fait que pour les fortes doses il faut ensemencer un grand nombre de cellules ce qui modifie l'efficacité de collage des cellules. Ce phénomène est connu sous le nom de "Plating efficiency". Dans le but de travailler à fortes doses, il faut établir la courbe de plating efficiency pour chaque lignée. Cette courbe représente le taux d'adhérence des cellules en fonction de la densité cellulaire. Elle permet pour l'établissement des courbes de survie :

- soit de rester dans une gamme de densité cellulaire où le "plating efficiency" n'a pas d'influence.
- soit éventuellement de corriger la survie par la variation du "plating efficiency" aux fortes densités.

Courbes de survie déterminées avec les ions carbone de 9,8 MeV/u au GSI

Dans le but de confronter notre modèle à l'expérimentation, nous avons utilisé des résultats obtenus par le laboratoire EA3738 lors d'expériences réalisées au GSI en 2005. Nous rappelons que pour ces expériences, la méthode dite de double trypsination est employée. De plus, les courbes de survie en photons et en ions sont établies en parallèle (le même jour). Les figures 7.31 et 7.32 représentent les résultats observés pour la lignée SQ20B et la lignée SCC61 lors d'une première série d'expériences réalisées en mai 2004.

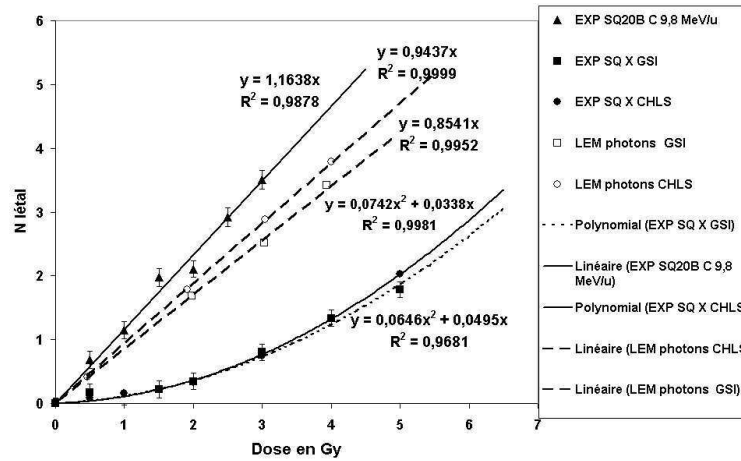


FIG. 7.31 – Courbes de survie des cellules SQ 20B avec les ions Carbone de 9.8 MeV/u.

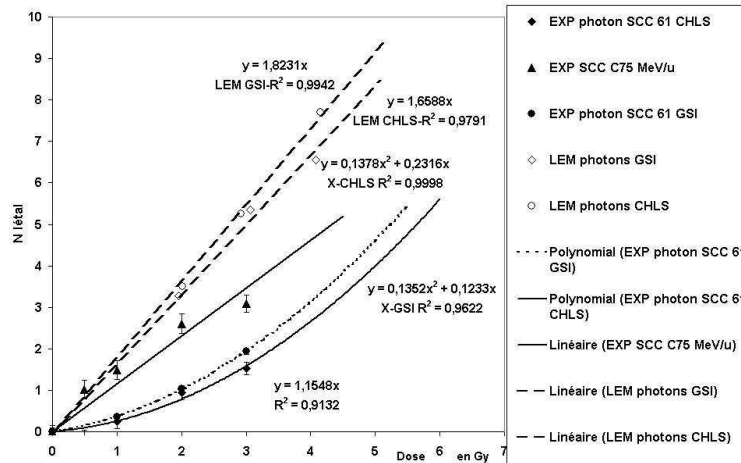


FIG. 7.32 – Courbes de survie des cellules SCC 61 avec les ions Carbone de 9.8 MeV/u.

Avec cette première expérience menée au GSI, on constate :

pour la lignée SQ 20B :

- Une bonne correspondance visuelle entre les résultats obtenus en photons au centre hospitalier Lyon-Sud et au GSI, cependant, α varie de près de 30% et β varie de près de 13%.
- Les points expérimentaux obtenus avec les ions C_{12} de 9.8 MeV/u montrent bien une relation linéaire entre le nombre d'événements létaux et la dose délivrée.
- Les points représentant les résultats des simulations montrent également une relation linéaire entre le nombre d'événements létaux et la dose délivrée.
- Il semble que le modèle *L.E.M.* sous estime l'apparition des événements létaux et donc sous estime

la létalité cellulaire. L'écart sur les événements létaux est d'environ 15 % à 2 Gy. Compte tenu de la relation linéaire, cet écart va croissant avec la dose et atteint les 40 % aux alentours de 3 à 4 Gy.

- Les pentes des points simulés diffèrent d'environ 10%, ce qui est à rapprocher des différences observées sur les valeurs de β .

pour la lignée SCC 61 :

- Là encore les points expérimentaux obtenus en photons au GSI semblent assez bien correspondre visuellement avec les points obtenus au centre hospitalier Lyon-Sud. Peu de points sont cependant disponibles ce qui explique que les ajustements sont eux sensiblement différents. En effet, α varie à peu près d'un facteur 2 tandis que β reste quasiment inchangé.
- Les points expérimentaux obtenus avec les ions C_{12} de 9.8 MeV/u sont nettement moins bien représentés par une relation linéaire entre le nombre d'événements létaux et la dose délivrée. Ceci est vraisemblablement dû au manque de points obtenus.
- Il semble que le modèle *L.E.M.* sur-estime dans ce cas l'apparition des événements létaux et donc sur-estime la létalité cellulaire. L'écart entre les événements létaux mesurés et calculés est d'environ 25 % à 2 Gy.
- Les pentes des points simulés diffèrent de seulement 10% avec des paramètres α qui diffèrent d'un facteur 2.

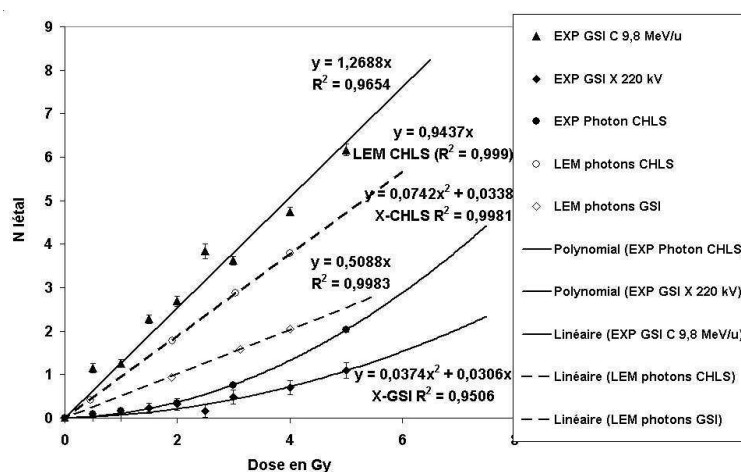


FIG. 7.33 – Courbes de survie des cellules SQ 20B avec les ions Carbone de 9.8 MeV/u . Expérience réalisée en Novembre 2004

La figure 7.33 montre les résultats obtenus pour la lignée SQ 20B en novembre 2004. Aucun résultat n'est présenté pour la lignée SCC 61 dont l'expérience a complètement échoué. On note :

- Que les résultats obtenus en photons sont très nettement différents de ceux observés lors de la première expérience au centre hospitalier Lyon-Sud. En effet, le paramètre α diffère d'environ 10 % tandis que β diffère de près d'un facteur 2.

- En conséquence, les points simulés avec les données photons de GSI ou avec les données du CHLS sont nettement différents et les pentes obtenues diffèrent également d'un facteur 2.
- Les points expérimentaux représentant les événements létaux obtenus avec les ions C_{12} de 9.8 MeV/u sont bien ajustés par une droite.
- Pour cette expérience, le modèle *L.E.M.* sous estime l'apparition des événements létaux comme lors de l'expérience précédente.

Courbes de survie déterminées avec les ions carbone de 75 MeV/u en salle G4 du GANIL

Toujours dans le but d'évaluer notre modèle nous avons mené une série d'expériences sur le site du GANIL à Caen. Nous avons notamment étudié la survie de nos deux lignées cellulaires avec les ions C_{13} de 75 MeV/u . Comme précédemment, nous ne représentons pas directement la survie cellulaire en fonction de la dose mais plutôt le nombre d'événements létaux en fonction de la dose (soit - $LN(S)$) La figure 7.34 représente les résultats observés pour la lignées SQ 20B tandis que la figure 7.35 représente ceux de la lignées SCC 61.

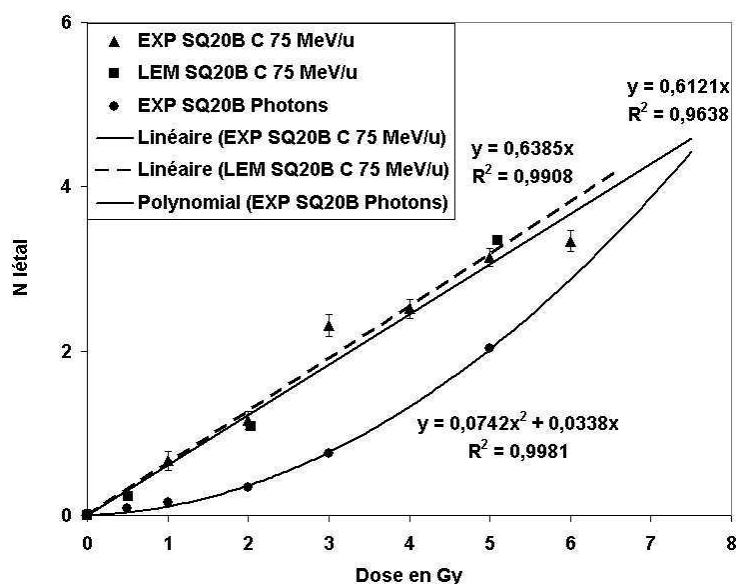


FIG. 7.34 – Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SQ 20B avec les ions Carbone de 75 MeV/u .

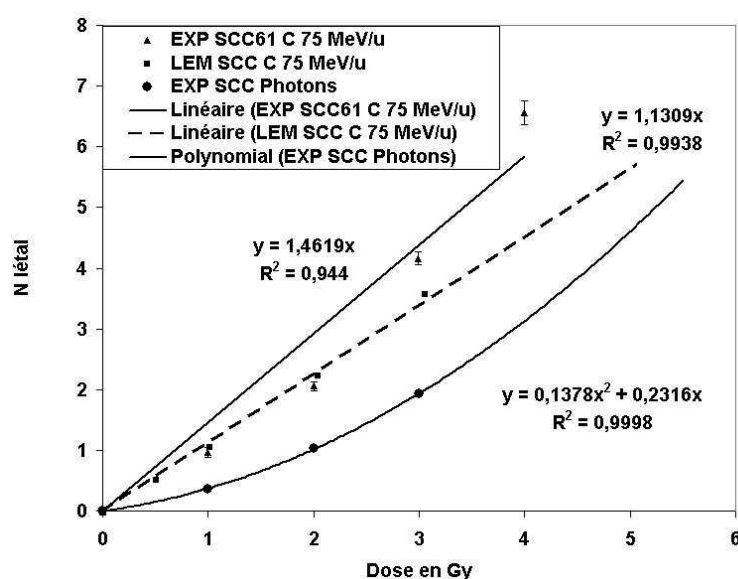


FIG. 7.35 – Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SCC 61 avec les ions Carbone de 75 MeV/u .

On peut noter :

pour la lignée SQ 20B

- Les points expérimentaux obtenus avec les ions C_{13} de 75 MeV/u sont correctement représentés par une droite.
- Il semble que les points mesurés et les points simulés (avec les données obtenues en photons au CHLS) soient en bonne concordance.

Dans ce cas le modèle *L.E.M.* semble décrire correctement l'apparition des événements létaux et donc la survie de notre lignée SQ 20B avec les paramètres $\alpha = 0.0338$ et $\beta = 0.0742$.

pour la lignée SCC 61

- Les points expérimentaux obtenus avec les ions C_{13} de 75 MeV/u ne sont pas correctement représentés par une droite.
- Les points obtenus pour des doses inférieures ou égales à 2 Gy semblent assez bien représentés par le modèle *L.E.M.* tandis qu'au delà de 2 Gy, les points mesurés montrent un nombre d'événements létaux supérieur à ce que prévoit la simulation (de l'ordre de 15 % à 3 Gy).

Pour cette expérience concernant la lignée SCC 61, on est amené à s'interroger sur les résultats obtenus avec les ions qui ne sont pas correctement représentés par une droite.

Courbes de survie déterminées avec les ions argon de 95 MeV/u en salle D1 du GANIL

Lors de notre première expérience avec les ions, nous avons étudié la survie de nos deux lignées sur un faisceau d'Argon de 95 MeV/u. Il s'agissait d'une expérience test destinée à valider nos protocoles de travail dans l'environnement du GANIL. Les figures 7.36 et 7.37 présentent les résultats que nous avons obtenus lors de ce test pour nos lignées SQ 20B et SCC61 respectivement.

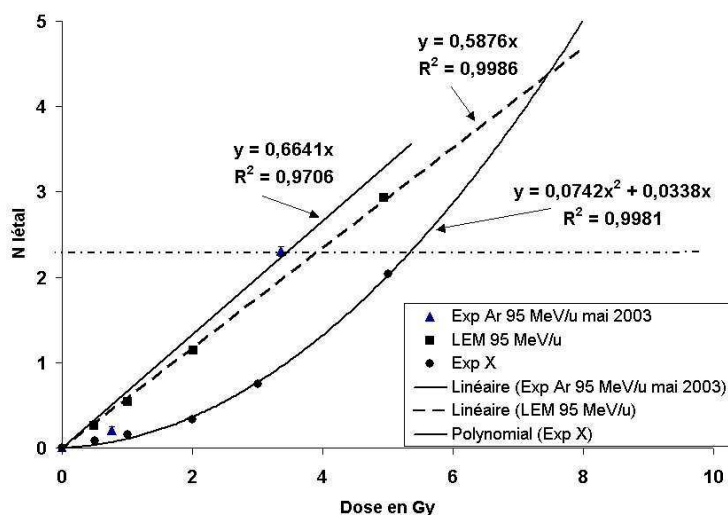


FIG. 7.36 – Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SQ 20B avec les ions Argon de 95 MeV/u.

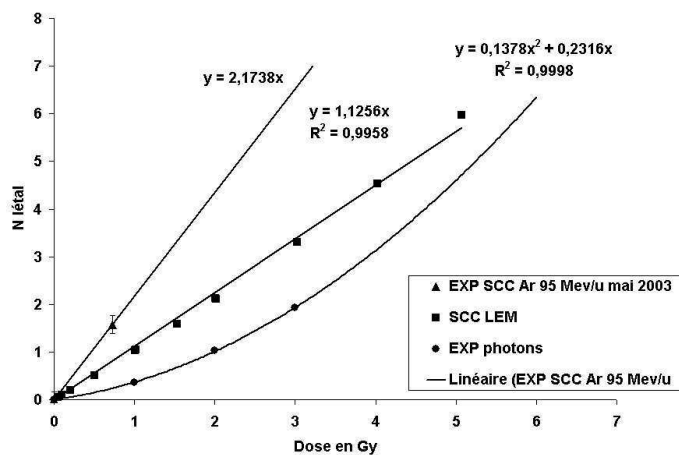


FIG. 7.37 – Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SCC 61 avec les ions Argon de 95 MeV/u.

Comme nous l'avons évoqué dans la présentation des résultats de dosimétrie, une erreur dans le contrôle de la dose déposée a été mise en évidence lors de cette expérience. Bien entendu cette erreur a affecté nos résultats car la dose réellement déposée était bien supérieure à la dose demandée. On note cependant

que :

pour la lignée SQ 20B

- Les deux points expérimentaux qui ont été exploitables sont en assez bonne concordance avec le modèle *L.E.M.*.
- On remarque cependant que le modèle tend à sous-estimer légèrement l'apparition des événements létaux .

pour la lignée SCC 61

- Le seul point expérimental exploitable est en total désaccord par rapport à la simulation

Compte tenu du fait qu'il s'agisse d'une expérience test, pendant laquelle on a pu mettre en évidence des erreurs dans le contrôle de la dose déposée, ces résultats sont à prendre avec précaution. Il nous préoccupe cependant de savoir si les points expérimentaux sont fiables ou non. Pour ces raisons, nous avons mené une autre campagne de mesure pour contrôler ces points.

Courbes de survie déterminées avec les ions argon de 95 MeV/u en salle G4 du GANIL

Pour contrôler les points expérimentaux obtenus avec les ions Argon, nous avons décidé de manipuler dans la salle G4 du GANIL. Ce choix se justifie par le fait que le champ d'irradiation couvre totalement nos échantillons dans cette salle et que nous pouvons de plus laisser en permanence deux chambres d'ionisation pour monitorer l'irradiation ce qui nous permet un contrôle temps réel de la dose déposée. La figure 7.38 représente les résultats obtenus pour la lignée SQ 20B.

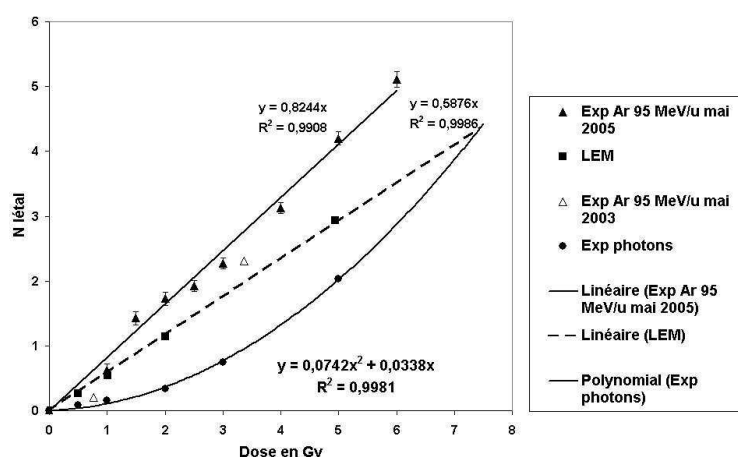


FIG. 7.38 – Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SQ 20B avec les ions Argon de 95 MeV/u .

On remarque que :

- Les points expérimentaux sont bien ajustés par une droite.
- Le point 3 Gy de l'expérience précédente (triangle vide) est en bonne concordance avec ces nouveaux résultats.
- Le modèle *L.E.M.* sous-estime l'apparition des événements létaux.

La figure 7.39 représente les résultats obtenus pour la lignée SCC 61.

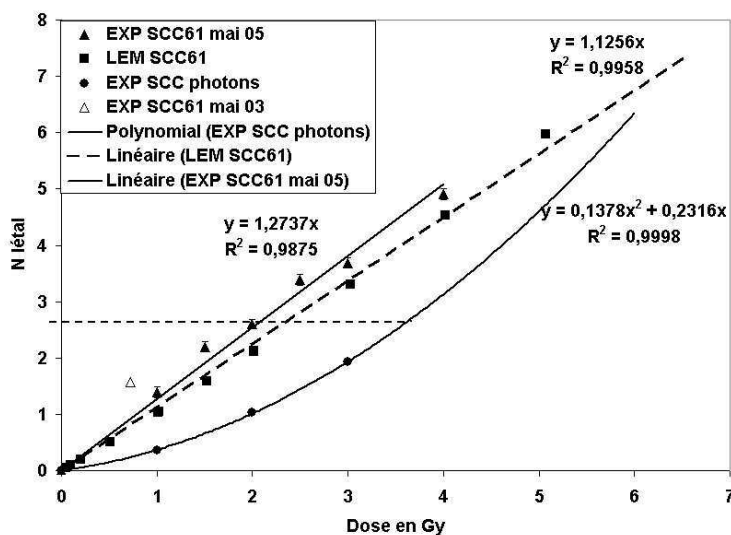


FIG. 7.39 – Nombres d'événements létaux mesurés sur des cellules SCC 61 avec les ions Argon de 95 MeV/u.

On note que :

- Les points expérimentaux sont bien ajustés par une droite.
- Le point 0.75 Gy de l'expérience précédente semble sur-estimer le nombre d'événements létaux.
- Visuellement, le modèle *L.E.M.* sous-estime légèrement le nombre d'événements létaux. Les pentes des deux droites d'ajustement (expérimentale et simulation) diffèrent d'environ 13 %.

DISCUSSION-CONCLUSION

L'objectif de ce travail a été double. Nous avons d'une part étudié le modèle d'effet local, basé sur les travaux de Scholz et al. (Scholz et Kraft 1992). Un code de simulation a été développé et l'étude de l'influence des différents paramètres du modèle a été discutée. D'autre part, une confrontation de cette modélisation avec l'expérimentation a également été effectuée. Pour ce faire des courbes de survie en photons et avec les particules de haut *T.E.L.* ont été mesurées sur des lignées cellulaires humaines tumorales.

Etude du modèle d'effet local. L'étude du modèle d'effet local, présentée dans le chapitre 2, nous a conduit à réaliser notre propre code de simulation Monte-Carlo. Cette approche, riche d'enseignement, s'est avérée indispensable dans la compréhension plus fine du modèle.

Nous avons bien entendu noté les similitudes de la méthode développée par Scholz et al. (Scholz et Kraft 1992) par rapport aux travaux de Katz et al. (Katz et Butts 1965) qui, dès les années 1970, ont cherché à prédire, par un modèle physique de trace, la réponse d'un détecteur exposé aux particules de haut *T.E.L.* connaissant la réponse de ce dernier aux photons.

Nous retiendrons que Katz et al. ont établi un modèle, sans paramètre libre, tout a fait apte à prédire la réponse des émulsions nucléaires connaissant leur réponse aux R-X, la nature et la vitesse des particules projectiles.

A la suite de ces travaux sur les émulsions, Katz et al. se sont également penchés sur le cas des cibles biologiques, comme les virus, les enzymes et les cellules (Butts et Katz 1967), (Katz, Ackerson, Homayoonfar, et Sharma 1971) et (Roth, Sharma, et Katz 1975). Ils ont déduit de leurs travaux que les cellules ne pouvaient pas être traitées comme un détecteur qui se comporte comme une cible à 1 coup. Ils ont ainsi établi pour le cas de la survie cellulaire un modèle à 4 paramètres radiobiologiques permettant le calcul de la survie cellulaire aux ions. Les paramètres de leur modèle, liés à la radiosensibilité sont :

- D_0 : déterminé par irradiation X,
- m représente le nombre de cible subcellulaire (épaulement de la courbe de survie au R-X),
- σ_0 , représente la dimension de la cible cellulaire, déterminé par irradiation particulaire,
- K , représente la position du pic dans la relation $E.B.R. = f(T.E.L.)$.

Bien entendu, la connaissance de la nature, de l'énergie et de la vitesse des ions est requise pour ce modèle. Les résultats présentés par ces auteurs (Katz, Ackerson, Homayoonfar, et Sharma 1971) et (Roth, Sharma, et Katz 1975) montrent une bonne concordance par rapport aux données expérimentales. **Le modèle de trace de Katz et al. de prédiction de la survie cellulaire, est fondé sur des paramètres liés aux expériences en R-X mais également sur des paramètres issus des expériences avec les particules de haut T.E.L. .**

Le modèle *L.E.M.* de Scholz et al. est un modèle sans paramètre libre, basé sur la prise en compte locale d'événements létaux en s'appuyant sur des paramètres issus des courbes de survie aux R-X. Les auteurs s'inspire de la démarche de Katz et al. pour les grains de l'émulsion. Scholz et al. ont présenté de nombreux travaux. sur le *L.E.M.*, portant à la fois sur les aspects théoriques (Scholz 1996) et (Scholz, Kellerer, Kraft-Weyrather, et Kraft 1997) et sur la capacité du modèle à prédire la survie cellulaire lors d'une irradiation avec les particules de haut T.E.L. (Scholz et Kraft 1996) et (Scholz et Kraft 1994). Les idées directrices de ce modèle sont les suivantes :

- Les effets biologiques des ions ne sont pas liés à la dose globale mais à la dose locale,
- L'effet global est la somme des contributions de chaque effet local.

Nous retiendrons également les deux hypothèses qui sous-tendent le modèle. On considère en effet que :

- La structure sensible de la cellule est uniformément et exclusivement contenu dans le noyau cellulaire.
- L'effet biologique est entièrement déterminé par la distribution spatiale de dose dans le noyau cellulaire. En d'autres termes, il n'y a pas de différence entre l'effet d'un dépôt local d'énergie engendré par des photons ou d'un dépôt local généré par des particules chargées.

Ce modèle ne retient aucun paramètre libre. Contrairement au modèle de Katz où nous avons noté deux modes d'inactivation, dans le modèle de Scholz et al. tout est déduit de la courbe de survie en R-X et de la distribution de dose locale.

Etant donnée que le *L.E.M.* pourrait devenir une approche retenue pour la planimétrie du traitement, il nous a semblé important d'évaluer ce modèle par une étude théorique et par une confrontation expérimentale. L'étude que nous avons menée visait d'abord à expliquer les contributions des ions à la formation des événements létaux dans le modèle de Scholz et al.. Nous avons également tenter de trouver une limite à la notion de "localité" dans ce modèle. Nous avons pour cela introduit un volume caractéristique, se ramenant en pratique à la définition de pixel. Pour mieux s'impregner et comprendre certains points clés du *L.E.M.*, nous avons défini des grandeurs permettant de ramener une simulation complexe à une étude réalisée sur un pixel représentatif. **Notre étude permet de comprendre quels sont les impacts des ions qui apportent une forte contribution en dose ou en événements létaux dans le pixel. Elle met en évidence les paramètres importants du modèle *L.E.M.* sans faire aucune**

simulation. En résumé nous retiendrons :

- $\frac{2 \times \beta \times D_{seuil}}{\alpha}$ semble être un paramètre clé du modèle *L.E.M.*,
- D_{seuil} , dont la détermination expérimentale est difficile, est cependant intrinsèquement importante puisque la plus grande partie des défauts sont créés avec des doses bien supérieures à cette dernière.
- La pixélisation semble n'avoir que peu d'effet si la dimension du pixel reste raisonnable, c'est à dire $\leq 100 \text{ nm} \times 100 \text{ nm}$.

Nous avons également étudié la sensibilité des résultats des simulations numériques aux variations des différents paramètres d'entrée. Nos travaux montrent :

- Pour le carbone à 1 MeV/u, une variation du rayon du noyau cellulaire de 1 à 10 μm induit une variation d'un facteur 3 en terme de section efficace d'inactivation.
- D_{seuil} apparaît comme un paramètre très important du modèle. Une erreur de 20 % sur la détermination de D_{seuil} entraînerait une erreur presque aussi importante sur la section efficace d'inactivation aux faibles doses.
- Excepté pour le carbone à 1 MeV/u, lorsque β augmente à peu près d'un facteur 4.5 alors la section efficace d'inactivation aux faibles doses augmente environ d'un facteur 4.

Nous retiendrons une très forte sensibilité du modèle aux paramètres radiobiologiques β D_{seuil} quel que soit l'ion considéré. C'est également le cas de la dimension cellulaire R_{cell} pour les ions de très fort T.E.L. (ions carbone de 1 MeV/u par exemple).

De plus, l'analyse des données de la littérature montre qu'il existe plusieurs ajustements de courbes de survie, notamment aux fortes doses. La difficulté majeure réside dans le choix du bon ajustement mathématique compte tenu de l'imprécision des points expérimentaux aux fortes doses. On comprend que se trouve ici une faiblesse majeure dans le *L.E.M.*. Cette conclusion est cohérente avec la conclusion qualitative suivante : nous avons clairement souligné que les doses locales considérées dans le *L.E.M.* sont de plusieurs dizaines, voire la centaine de Gray près de la trace de l'ion. Dans ces conditions, si la courbe de survie déterminée en photons est imprécise aux fortes doses, il devient hasardeux de l'utiliser pour déduire un nombre d'événements létaux, localement générés par les particules lourdes chargées (et correspondant à des doses de plusieurs dizaines de Gy).

Finalement, dans l'approche de Scholz et al., nous regrettons qu'il soit difficile de déterminer expérimentalement la dose D_{seuil} au delà de laquelle l'ajustement de la courbe de survie devient purement exponentiel. **L'intérêt du modèle *L.E.M.* réside dans le fait qu'il s'agit d'un modèle sans paramètre libre, basé exclusivement sur les données radiobiologiques déterminées lors d'une exposition aux R-X.** L'inconvénient majeur est que la détermination précise de ces données radiobiologiques est extrêmement difficile. Ceci en particulier est dû à la variabilité des lignées cellulaires pour les irradiations aux photons. Au contraire, nous avons noté que cette variabilité semble être gommée pour des expériences aux ions. L'approche de Katz et al. semble pertinente car il utilise dans son modèle deux paramètres issus des courbes de survie mesurées avec les particules de haut T.E.L., où l'action des

D.M.F. est bien moindre.

Mesures des courbes de survie. La deuxième partie de ce travail a été d'effectuer des courbes de survie cellulaire, que se soit en R-X ou avec les particules de haut *T.E.L.*. Cette étape s'est avérée indispensable dans ce travail. Nous avons dû pour cela initier des collaboration avec plusieurs laboratoires dans des disciplines différentes (microscopie, radiobiologie, physique nucléaire). Nous nous sommes également appuyé sur les conseils de spécialistes des mesures d'efficacité biologique relative (Gueulette, Slabbert, Bohm, et al. 2001) et (Gueulette, Bohm, Slabbert, et al. 2000). L'expérience de l'équipe de radiobiologie de l'EA 3738 a également été très appréciable. Les résultats que nous avons présenté ne sont pas parfaits et reflètent notre initiation à la détermination des courbes de survie cellulaires avec les particules de haut *T.E.L.* mais les expériences réalisées ont été extrêmement formatrices et constituent un passage obligé dans l'approche du problème de la radiobiologie.

L'expérimentation nous a permis de nous rendre compte des difficultés d'un protocole de mesure de survie cellulaire en contradiction avec les besoins de la théorie.

La réalisation des courbes de survie cellulaire en R-X avait comme finalité majeure de déterminer les paramètres radiobiologiques nécessaires à l'application du *L.E.M.*. Les résultats obtenus montrent nettement la variabilité de la mesure d'une expérience à l'autre pour une même lignée cellulaire bien qu'un même protocole expérimental ait été utilisé. Une partie de cette variabilité est vraisemblablement attribuable à la difficulté d'obtenir un ensemencement reproductible. Une autre part de cette variabilité des résultats peut être attribuée aux variations intrinsèques des cellules. En effet leur plating efficiency et leur réponse cellulaire varient au cours du temps (vieillissement cellulaire). Les courbes de survie mesurées avec les particules lourdes chargées étaient destinées à valider les prédictions des simulations. Ici encore nous avons été confronté à plusieurs problèmes :

- La dimension restreinte des champs d'irradiation
- L'hétérogénéité de la dose délivrée.

Malgré tout, les résultats expérimentaux ont été confrontés aux prédictions *L.E.M.*, obtenus avec les paramètres extraits des courbes de survie en R-X. Les résultats ont démontré qu'en fonction des paramètres des différentes courbes de survie en R-X les résultats des simulations étaient différents. Ceci est problématique dans la mesure où effectivement les différentes expériences réalisées en R-X ont donné des jeux de paramètres radiobiologiques différents. Ceci ne permet donc pas de statuer, en l'état et dans le cadre de nos expériences, sur une possible utilisation du *L.E.M.* dans un cadre clinique. Au vu de ces résultats il nous paraît prématuré d'utiliser le modèle sans y apporter des modifications. Une amélioration du modèle pourrait être, comme le suggère Katz et al., d'utiliser un paramètre libre (par exemple D_{seuil}) que l'on ajusterait pour faire correspondre les simulations du *L.E.M.* avec une expérience avec les particules de haut *T.E.L.*. L'intérêt de la méthode est de diminuer l'influence de la variabilité biologique dans la détermination du paramètre D_{seuil} (ainsi que β). Une autre amélioration serait également de maîtriser

mieux l'ensemencement et le comptage des cellules pour les courbes de survie. Pour cela l'IPNL a lancé une étude d'un compteur de cellules et de colonies qui permettrait de suivre chaque boîte de culture d'une manière rapide et automatique.

Pour mener à bien ces expériences d'irradiation à haut *T.E.L.* nous avons dû mettre au point un protocole de dosimétrie, afin de s'assurer de la dose délivrée aux échantillons et de son uniformité. Les résultats que nous avons obtenu ont été très intéressants et ont permis d'identifier certains problèmes survenus lors de l'irradiation en salle D_1 . Ces expériences confirment la nécessité de contrôler avec rigueur la dose déposée lors des expériences de radiobiologie. Nous avons dans un premier temps validé les outils utilisés en radiothérapie conventionnelle (chambre d'ionisation, films radiographiques...) pour la dosimétrie des particules lourdes chargées. Nous avons également utilisé, pour compléter l'étude, des détecteurs de traces de type *CR 39*. Grâce à ces expériences, nous avons montré les possibilités que pouvaient offrir ces outils dans le contrôle de qualité de l'irradiation en terme de métrologie de la dose absolue et aussi de contrôle de l'uniformité de la dose délivrée.

Perspectives La détermination de la létalité des cellules cancéreuses et de leur *E.B.R.* sont des étapes incontournables avant le traitement d'un premier patient dans le cadre d'une application en hadronthérapie. Nos travaux illustrent bien le fait qu'une approche expérimentale, notamment *in-vitro* sera nécessaire mais doit être suivie d'expériences *in-vivo* plus proches des conditions cliniques. Cette approche expérimentale nous donne alors un étalonnage biologique du faisceau d'irradiation. Une méthode expérimentale *in-vivo* établie par J.Gueulette (Gueulette, Breteau, Sabattier, et Wambersie 1982) basée sur la régénération des cryptes intestinales de la souris est aujourd'hui communément admise comme la méthode d'étalonnage de référence (Gueulette, Beauduin, Gregoire, et al. 1996). De nouvelles mesures *in-vivo* de comparaison des faisceaux d'irradiations photons, protons, neutrons et ions légers seront à mettre en oeuvre.

Références

- Ando, K., Koike, S., Uzawa, A., Takai, N., Fukawa, T., et al. 2005.** Biological gain of carbon-ion radiotherapy for the early response of tumor growth delay and against early response of skin reaction in mice. *J. Radiat. Res.* 46(1) :51–57.
- Andreo, P., Burns, D., Hohlfeld, K., et al. 2000.** Absorbed dose determination in external beam radiotherapy : an international code of practice for dosimetry based on standards of absorbed dose to water. Technical report, IAEA Technical Report Series 398 (Vienna : IAEA).
- Auger, P. 1924.** Comptes Rendus. 178 :929.
- Barkas, W., Dyer, N., et Heckman, H. 1963.** *Phys. Rev. Lett.* 11 :26.
- Bedford, J. et Cornforth, M. 1987.** Relationship between the recovery from sublethal X-ray damage and the rejoining of chromosome breaks in normal human fibroblasts. *Radiat. Res.* 11(3) :406–423.
- Bethe, H. 1930.** *Ann. Phys.* 5 :325.
- Bettega, D., Calzolari, P., Doglia, S., Dulio, B., Tallone, L., et Villa, A. 1998.** cell thickness measurements by confocal fluorescence microscopy on C3H10T1/2 and V79 cells. Technical report, Int. J. Radiat. Biol.
- Bicknell, G. et Cohen, G. 1995.** Cleavage of DNA to large kilobase pair fragments occurs in some forms of necrosis as well as apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 6(207) :40–47.
- Biersack, J. et Haggmark, L. 1980.** *Nucl. Inst. and Meth.* 174 :257.
- Bizzeti, P. et Delta Corte, M. 1959.** *Nuovo Cimento* 11 :317.
- Bloch, F. 1933.** *Zeit für Phys* 86 :363.
- Boei, J., Vermeulen, S., L.H., M., et Natarajan, A. 2001.** Impact of radiation quality on the spectrum of induced chromosome exchange aberrations. *Int. J. of radiat. Biol.* 77 :847–857.
- Bohr, N. 1948.** *Mat. Fys. Medd. Dan. Vid Selsk* 18.
- Brandt, W. et Ritchie, R. 1974.** primary process in the physical stage. Technical report, In Gray TJ, Starace AF (eds) Physical mechanisms in radiation biology. Tech info. Center, US Atomic Energy Commission.
- Butts, J. et Katz, R. 1967.** Theory of RBE for heavy ion bombardment of dry enzymes and viruses. *Radiation Research* 30 :855–871.

- Carlsson, G. 1985.** *Theoretical basis for dosimetry. In : The dosimetry of ionizing radiation.* Academic press, New York.
- Chatterjee et Magee, J. 1980.** Biological and Medical Research with Accelerated Heavy Ions at the BEVELAC 1977. Technical report, LBL-Report.
- Courdi, A., Mari, D., Hérault, J., et Chauvel, P. 1995.** Micronucléus induction and reproductive death in a human cell line exposed to low energy argon beam. *Radiat. Environ Biophys.* 34 :85–89.
- Courdi, A., Pignol, J., Iborra-Brassart, N., Hérault, J., Fares, G., Hachem, A., et Chauvel, P. 1998.** Transfert d'énergie linéique et radiosensibilité cellulaire. *J. Chim. Phys.* 95 :708–717.
- Cucinota, F., Katz, R., Wilson, J., et Dubey, R. 1995.** Radial dose distribution in the delta-ray theory of track structure. In *Gray TJ, Starace A.F.(eds), Proceeding of two center effects in ion atom collisions, AIP Conférence proceedings*, pp. 245–265.
- Cucinota, F., Nikjoo, H., et Goodhead, D. 1999.** Application of amorphoust track models in radiation biologie. *Radiation Environment* 38 :81–92.
- Cucinotta, F., Katz, R., et Wilson, J. 1998.** Track struture model for radial distributions of electron spectra and event spectra from high-energy ions. Technical report, NASA Technical Paper.
- Decarroz, C., Wagner, J., Van Lier, J., et al 1986.** Sensitized photo-oxydation of thymine by 2-méthyl-1, 4-naphthoquinone. Characterization of stable products. *Int. J. Radiat. Biol.* 50 :491–505.
- Fukumura, A., T., H., Omata, K., Takeshita, M., et al. 1998.** Carbon beam dosimetry inter-comparison at HIMAC. *Phys. Med. Biol.* 43 :3459–3463.
- Galle, P. et Paulin, R. 1992.** *Biophysique 1 : Radiobiologie-Radiopathologie pp 49-68.* Masson Edition, Paris.
- Gandhi, N. et Nair, C. 2004.** Radiation protection by diethyldithiocarbamate : protection of membrane and DNA in-vitro and in-vivo against gamma radiation. *J. Radiat.Res.* 45(2) :175–180.
- Giocanti, N., Hennequin, C., Balosso, J., Mahler, M., et Favaudon, V. 1993.** DNA repair and cell cycle interactions in radiation sensitization by the topoisomerase II poison etoposide. *Canc.Res.* 53(9) :2105–2111.
- Gremy, F. et Perrin, J. 1977.** *Elements de biophysique tome 2.* Edition Flammarion, Paris.
- Griffin, C., Harvey, A., et Savage, J. 1994.** Chromatid damage by ^{238}Pu α particles in G2 and S phase chinese hamster V79 cells. *Int.J. of radiat. Biol.* 66 :85–98.
- Grosovsky, A. et al. 1999.** Radiation-induced mutations in unirradiated DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(10) :5346–5347.
- Gueulette, J., Beauduin, M., Gregoire, V., et al. 1996.** RBE variation between fast neutron beams as a function of energy. Intercomparison involving 7 neutrontherapy facilities. *Bull. Cancer Radiother.* 83 :55s–63s.

- Gueulette, J., Bohm, L., Slabbert, J., et al. 2000.** Proton relative biological effectiveness (RBE) for survival in mice after thoracic irradiation with fractionated doses. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 47 :1051–1058.
- Gueulette, J., Breteau, N., Sabattier, R., et Wambersie, A. 1982.** Relative biological effectiveness (RBE) of d(50)-Be neutrons (Louvain-la-Neuve) and p(34)-Be neutrons (Orleans) for early intestinal tolerance in mice. *C R Seances Soc Biol Fil.* 176(3) :422–428.
- Gueulette, J., Slabbert, J., Bohm, L., et al. 2001.** Proton RBE for early intestinal tolerance in mice after fractionated irradiation. *Radiotherapy and oncol.* 61 :177–184.
- Hagamohammadi, S., Goodhead, D., et Savage, J. 1988.** Induction of sister chromatid exchange(SCE) in G_0 lymphocytes by plutonium 238 α particles. *Int.J. of radiat. Biol.* 53(6) :909–915.
- Hall, E. 2000.** *Radiobiology for the radiologist*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA.
- Hartwell, L. et Weinert, T. 1989.** *Science* 246 :629–634.
- Hutchinson, F. et Pollard, E. 1961.** *Mechanisms in radiobiology*. M.Errera and A.Forsberg New York Academic press.
- ICRU 1984.** Stopping powers for electrons et positrons. Technical report, ICRU.
- ICRU49D 1993.** Stopping powers and ranges for protons and alpha particles. Technical report, ICRU.
- John, H.E. et Cunningham, J. 1953.** *The physic of radiology (pp 796)*. CC Thomas eds, Springfield Illinois.
- Kanter, H. et Sternglass, E. 1962.** interpretation of range measurements for kilovolt électrons in solid. *Phys Rev* 126 :620–626.
- Kassis, A. et al. 2004.** In vivo validation of the bystander effect. *Hum. Exp. Toxicol.* 23(2) :71–73.
- Katz, R., Ackerson, B., Homayoonfar, M., et Sharma, S. 1971.** Inactivation of cells by heavy ions bombardment. *Rad. research* 47 :402–425.
- Katz, R. et Butts, J. 1965.** Width of ion and monopole tracks emulsion. *Phys Rev* 137 :198–203.
- Kerr, J. et al. 1972.** Apoptosis : A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 26 :239–257.
- Kobetich, E. et Katz, R. 1968a.** Energy deposition by electron beams and δ rays. *Phys Rev.* 170(2) :391–396.
- Kobetich, E. et Katz, R. 1968b.** Width of heavy ions track in emulsion. *Phys Rev* 170 :405–411.
- Lawrence, E. et Sloan, D. 1931.** The production of heavy, high speed ions without the use of high voltage. *Phys Rev* 38 :2022.
- Lehnert, B. et Goodwin, E. 1997.** *Cancer Research* 57 :2174.
- Lobrich, M., Cooper, P., et Rydberg, B. 1996.** Non-random distribution of DNA double strand breaks induced by particles irradiation. *Int. J. of Radiat. Biol.* 70 :493–503.

- Lonchamp, J. 1953.** The radial dose distribution of dose around the path of a heavy ion in liquid water. *J.Phys Radium* 14 :433.
- Masao, S., Yoko, K., Tatsuaki, K., et koichi, A. 2000.** Change in radiosensitivity with fractionated-dose irradiation of carbon-ion beams in five different human cell lines. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 48(1) :251–258.
- Mikkelsen, R. et al. 2004.** Redox signaling mechanisms and radiation-induced bystander effects. *Hum. Exp. Toxicol.* 23(2) :75–79.
- Moretto, P., Michelet, C., Balana, A., Barberet, P., et al. 2001.** Development of a single ion irradiation system at CENBG for application in radiation biology. *Nucl. Instr. Meth.* 181 :104–109.
- Morgan, S. et Kastan, M. 1997.** p53 and ATM : cell cycle, cell death, and cancer. *Adv. Cancer Res.* 71 :1–25.
- Munro, T. 1970.** The relative radiosensitivity of the nucleus and cytoplasm of chinese hamster fibroblasts. *Radiat.Res.* 42 :451–470.
- Nagasawa, H. et Little, J. 1992.** *Cancer Research* 52 :6394.
- Olive, P. 1998.** The role of DNA single- and double-strand breaks in cell killing by ionizing radiation. *Radiat.Res.* 150 :S42–S51.
- Pouget, J. et Mather, S. 2001.** General aspects of the cellular response to low and high LET radiation. *Eur. J. Nucl. Med.* 28 :541–561.
- Prise, K., Folkard, M., et Michael, B. 2003.** A review of the bystander effect and its implications for low-dose exposure. *Radiat. Prot. Dosimetry* 104(4) :347–355.
- Puck, T.T. et Marcus, P. 1956.** Action of x-rays on mammalian cells. *J. Exp. Med* 103(5) :653–666.
- Raju, M., Amols, H., Bain, E., et al. 1978.** A Heavy particule comparative study. PartIII : OER and RBE. *Br. J. Radiol.* 51(609) :712–719.
- Rathmell, W.K.and Kaufmann, W., Hurt, J., Byrd, L., et Chu, G. 1997.** DNA-dependent protein kinase is not required for accumulation of p53 or cell cycle arrest after DNA damage. *Cancer Res.* 57 :68–74.
- Robert, K. 1985.** Stopping power and range energy tables for heavy ions in water.
- Roth, R., Sharma, S., et Katz, R. 1975.** Systematic evaluation of cellular radiosensitivity parameters. *Phys. Med. Biol.* 21(4) :491–503.
- Rydberg, B., Cooper, P., W.R, H., et Chatterjee, A. 2005.** Dose-dependent misrejoining of radiation induced DNA double strand breaks in human fibroblasts :experimental and theoretical study for high and low-LET radiation. *Rad. Res.* 163(5) :526–534.
- Rydberg, B., Lobrich, M., et Cooper, P. 1998.** Repair of clustered DNA damage caused by high LET radiation in human fibroblasts. *Phys. Med.* 14(Suppl 1) :24–28.
- Scholz, M. 1996.** Calculation of RBE for normal tissue complications based on charged particle track

- structure. *Bull. Cancer/Radioth.* 83 :50s–54s.
- Scholz, M., Kellerer, A., Kraft-Weyrather, W., et Kraft, G. 1997. Computation of cell survival in heavy ion beams for therapy : The model and its approximation. *Radiat. Environ. Biophys.* 36 :59–66.
- Scholz, M. et Kraft, G. 1992. A parameter free track structure model for heavy ion action cross section. in : Chadwick KH- Moschini G - Varma MN : eds. *Biophysical Modelling of radiation effects*. Bristol. Adam Hilger :185–192.
- Scholz, M. et Kraft, G. 1994. Calculation of heavy ion inactivation probabilities based on track structure, X-Ray sensitivity and target size. *Radiat. Protection. Dosimetry* 52 :29–33.
- Scholz, M. et Kraft, G. 1996. Track structure and the calculation of biological effects of heavy charged particles. *Adv. Space Research* 18(1/2) :5–14.
- Shao, C., Folkard, M., Michael, B., et Prise, K. 2004. Targeted cytoplasmic irradiation induces bystander responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(37) :13495–13500.
- Shaw, P. 1996. The role of p53 in cell cycle regulation. *Pathol.Res.Pract.* 192 :669–675.
- Sinclair, W. 1968. *Radiat. Res.* 33 :620–643.
- Smith, M., Zhan, Q., Bae, I., et Fornace, A. 1994. Role of retinoblastoma gene product in p53-mediated DNA damage response. *Exp.Cell Res.* 215 :386–389.
- Snyder, A. 2004. Review of radiation-induced bystander effects. *Hum. Exp. Toxicol.* 23(2) :87–91.
- Spencer, L. et Attix, F. 1955. A theory of cavity ionization. *Radiat.Res.* 3 :239–254.
- Spielberger, B., Kraemer, M., et Kraft, G. 2003. Three-dimensional dose verification with X-ray films in conformal carbon ion therapy. *Phys. Med. Biol.* 48(4) :497–505.
- Spotheim-Maurizot, M., Bergusova, M., et Charlier, M. 2003. Dégradation de l'ADN par les rayonnements ionisants. Influence de la structure et de l'environnement. *La Chimie dans les sciences médicales. Mécanismes biochimiques*In *Actualité Chimique, Société Française de chimie* Ed. nov-déc 2003 :97–102.
- Stone, R. 1948. Neutron therapy and specific ionization. *Am J Roentgenol and Rad Therapy* 59 :771–785.
- Szumiel, T. 1998. Monitoring and signaling of radiation-induced damage in mammalian cells. *Radiat.Res.* 150 :S92–101.
- Taneja, N., Tjalkens, R., Philbert, M., et Rehemtulla, A. 2001. Irradiation of mitochondria initiates apoptosis in a cell free system. *Oncogene* 20(2) :167–177.
- Townsend, K. et Marsden, S. 1992. Nuclear area measurement on viable cells, using confocal microscopy. Technical report, Int. J. Radiat. Biol.
- Townsend, K., Stretch, A., Stevens, L., et Goodhead, D. 1990. Thickness measurements on V79-4 cells : a comparison between laser scanning confocal microscopy and electron microscopy.

- Technical report, Int. J. Radiat. Biol.
- Tubiana, M., Dutreix, J., et Wambersie, A. 1986.** *Radiobiologie*. Hermann.
- Vernhet, D., Rozet, K., Woohrer, L., et al. 1996.** *nucl. Inst. Meth.* B-107 :71.
- Waligorski, M., Hamm, R., et Katz, R. 1986a.** The radial dose distribution of dose around the path of a heavy ion in liquid water. *Nucl. Tracks radiat. Meas.* 11 (N°6) :309–319.
- Waligorski, M. P. R., Hamm, R., et Katz, R. 1986b.** The radial distribution of dose around the path of a heavy ion in liquid water. *Tracks Radiat. Meas.* 11(6) :309.
- Ward, J. 1985.** Biochemistry of DNA lesions. *radiat. res. suppl.* 8 :S103–111.
- Ward, J., Blakely, W., et Joner, E. 1985.** Mammalian cells are not killed by DNA single-strand breaks caused by hydroxyl radicals from hydrogen peroxide. *Rad. Res.* 103(3) :383–392.
- Wu, L., Randers-Pehrson, G., Xu, A., Waldren, C., Geard, C., Yu, Z., et Hei, T. 1999.** *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(9) :4959–4964.
- Zhou, H. et Hei, T. 1998.** Radiation risk to low fluences of a particles may be greater than we thought. In *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98, pp. 14410–14415.
- Ziegler, J. 1978.** *Helium Stopping Powers and Ranges in All Elements*. vol. 4 of series "Stopping and Ranges of Ions in Matter," Pergamon Press, New York, USA.
- Ziegler, J. 1980.** *Handbook of stopping cross sections of energetic ions in all elements*. vol. 5 of series "Stopping and Ranges of Ions in Matter," Pergamon Press, New York, USA.
- Ziegler, J., Biersack, J., et Littmark, U. 1984.** *The Stopping and Range of Ions in Solids*. vol. 1 of series "Stopping and Ranges of Ions in Matter," Pergamon Press, New York, USA.

Annexes

Annexe A

Modèle statistique pour évaluer le phénomène d'adhérence des cellules

A.1 Hypothèses

On considère qu'une celluleensemencée a une probabilité p d'adhérer.

Par conséquent le phénomène d'adhérence de cette cellule suit une loi de Bernouilli de paramètre p .

Si maintenant on considère une boîte contenant N cellules et si, de plus on considère que le phénomène d'adhérence est indépendant pour chaque cellule alors le phénomène d'adhérence global est la somme des adhérences individuelle. Autrement dit, on retrouve la loi binomiale de paramètre p et N : la probabilité d'avoir n cellules adhérees sur N cellulesensemencées est alors :

$$p(n) = C_N^n \times p^n \times (1 - p)^{N-n} \quad (\text{A.1})$$

Ceci implique entre autres que l'adhérence des cellules ne dépend pas de N .

Remarque : En réalité, nous savons que le phénomène d'adhérence n'est pas totalement indépendant du nombre de cellules initialementensemencées dans les boîtes de culture mais l'hypothèse reste probablement une bonne approximation pour estimer les barres d'erreurs statistiques.

A.2 Estimation expérimentale de p

L'expérience consiste en q boîte contenant N_i cellules $i \in [1..q]$

A cause du phénomène d'adhérence on observe n_i cellules adhérees.

L'objectif est de trouver, à partir de cette expérience, un estimateur de p avec le plus petit écart type.

Pour que $Y(N)$ soit un estimateur sans biais de p , il faut que $\langle Y(N) \rangle$ soit égal à p .

On se propose de chercher un estimateur de p sous la forme

$$Y(N) = \sum_{i=1}^q \alpha_i \frac{X_i}{N_i} \quad (\text{A.2})$$

Pour que $Y(N)$ soit un estimateur sans biais de p , il faut que $\langle Y(N) \rangle$ soit égal à p .

X_i suit une loi binomiale de paramètre p et de taille N_i ,

$$\langle X_i \rangle = p(N_i) \quad (\text{A.3})$$

l'écart type de $\langle X_i \rangle$ étant :

$$\sigma = \sqrt{N_i \times (p) \times (1 - p)} \quad (\text{A.4})$$

Il faut donc que $\sum_{i=1}^q \alpha_i = 1$

On posera par la suite

$$Z_i = \alpha_i \frac{X_i}{N_i} \quad (\text{A.5})$$

L'objectif est donc de trouver α_i tel que $Y(N)$ soit le meilleur estimateur de p (c'est à dire avec le plus petit écart type possible). En d'autres termes il faut que la variance de $\langle Y \rangle$ soit la plus petite possible.

nous savons que si X et Y sont indépendants alors :

$$\sigma^2(X + Y) = \sigma^2(X) + \sigma^2(Y) \quad (\text{A.6})$$

et que

$$\sigma(\alpha X) = \alpha \sigma(X) \quad (\text{A.7})$$

Dans notre cas

$$\sigma^2(Y) = \sum_i \sigma^2(Z_i) \quad (\text{A.8})$$

et

$$\sigma(Z_i) = \frac{\alpha_i}{N_i} \sigma(X_i) = \frac{\alpha_i}{N_i} \sqrt{N_i \times (p) \times (1 - p)} \quad (\text{A.9})$$

Finalement

$$\sigma^2(Y) = \sum_i \left(\frac{\alpha_i}{N_i} \right)^2 N_i * (p) * (1 - p) \quad (\text{A.10})$$

A.3 Minimisation de $\sigma(Y)$

Minimiser $\sigma(Y)$ revient à minimiser $\sum_i \frac{\alpha_i^2}{N_i}$ sous la contrainte $\sum_i \alpha_i = 1$

On pose

$$f(\alpha) = \sum_i \frac{\alpha_i^2}{N_i} \quad (\text{A.11})$$

et

$$g(\alpha) = \sum_i \alpha_i \quad (\text{A.12})$$

D'après le théorème des multiplicateurs de Lagrange si f admet un extremum dans le sous-espace des α_i verifiant $\sum_{i=1}^q \alpha_i = 1$ alors :

$$\lambda \vec{grad}(g) = \vec{grad}(f) \quad (\text{A.13})$$

soit encore

$$\lambda = 2 \times \frac{\alpha_i}{N_i} \quad \forall i \in [1..q] \quad (\text{A.14})$$

Par conséquent :

$$\alpha_i = \lambda \frac{N_i}{2} \quad (\text{A.15})$$

Il nous reste à déterminer λ

Or nous avons $\sum_i \alpha_i = 1$

soit encore $1 = \frac{\lambda}{2} \sum_i N_i$ et finalement :

$$\lambda = \frac{2}{\sum_i N_i} \quad (\text{A.16})$$

Finalement d'après (A.15) et (A.16) on obtient :

$$\alpha_i = \left(\frac{N_i}{\sum_i N_i} \right) \quad (\text{A.17})$$

Le meilleur estimateur de p est donc

$$Y(N) = \sum_{i=1}^q \left(\frac{N_i}{\sum_i N_i} \right) \frac{X_i}{N_i} = \frac{\sum_i X_i}{\sum_i N_i} \quad (\text{A.18})$$

Dans ce cas nous obtenons une variance :

$$\sigma^2(Y) = \sum_i \left(\frac{\alpha_i}{N_i} \right)^2 N_i (p)(1-p) = \sum_i \left(\frac{\frac{N_i}{\sum_i N_i}}{N_i} \right) (p)(1-p) \quad (\text{A.19})$$

et un écart type

$$\sigma(Y) = \frac{\sqrt{p(1-p)}}{\sqrt{\sum_i \frac{N_i}{N_i^2}}} \quad (\text{A.20})$$

On peut remarquer que pour réduire $\sigma(Y)$ il faut augmenter $\sum_i N_i$, c'est à dire augmenter l'ensemencement global sur les q boîtes.

Déterminons maintenant l'écart type relatif associé à l'estimateur Y . Il vaut :

$$\sigma(Y)/Y = \frac{\frac{\sqrt{p(1-p)}}{\sqrt{\sum_i \frac{N_i}{N_i^2}}}}{\frac{\sum_i X_i}{\sum_i N_i}} \quad (\text{A.21})$$

soit encore :

$$\sigma(Y)/Y = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^q N_i \times p \times (1-p)}}{\sum_{i=1}^q X_i} \quad (\text{A.22})$$

Notons que dans de nombreux cas p est très faible par rapport à 1 aussi, si l'on admet que X_i s'estime bien par $N_i \times p$ cette dernière expression se simplifie de la manière suivante :

$$\sigma(Y)/Y \approx \frac{1}{\sum_{i=1}^q X_i} \quad (\text{A.23})$$

Avant de passer au cas des cellules irradiées, nous tenons à rappeler que ces développements concernent un modèle s'appuyant sur une description simple du processus d'adhérence. Dans un cadre plus réaliste, il faudrait intégrer d'autres sources de fluctuations telles que la différence entre deux cellules d'une même lignée, la difficile reproductibilité des manipulations lors de la préparation des cellules, les imperfections ou les variations du protocole expérimental... Notons, en particulier que le comptage des colonies, à l'heure actuelle manuel, constitue une source importante de fluctuations. Le développement précédent peut être généralisé en supposant que les variables aléatoires quelconques de moyennes $p \times N_i$ et d'écart type $\sqrt{N_i \times \sigma}$ où σ et p sont des constantes. Dans ce cas :

$$Y(N) = \frac{\sum_{i=1}^q X_i}{\sum_{i=1}^q N_i} \quad (\text{A.24})$$

reste le meilleur estimateur de p et l'écart type de Y devient :

$$\sigma(Y) = \frac{\sigma}{\sum_{i=1}^q N_i} \quad (\text{A.25})$$

La valeur de σ pourrait être estimée expérimentalement de manière à intégrer les autres sources de fluctuations (imperfection du protocole...)

A.4 Cas des cellules irradiées

Cette fois ci il faut prendre en compte les deux phénomènes qui peuvent entraîner la mort de la cellule :

- l'irradiation
- la probabilité d'adhérence encore appelée "plating efficiency"

On admet donc que la probabilité d'avoir une colonie est égale à la probabilité d'avoir une survie sachant qu'il y a adhérence de la cellule. On pose :

- p = probabilité d'adhérence (plating efficiency)
- s = probabilité de survie au rayonnement

On rappelle que $P(A \cap B) = P(A \text{ sachant } B) \times P(B)$

et si A et B sont indépendants alors $P(A \cap B) = P(A) \times P(B)$

Autrement dit si on néglige la corrélation entre le phénomène d'adhérence et la survie cellulaire à l'irradiation, on admet donc que la probabilité d'obtenir une colonie à partir d'une cellule irradiée est donnée par :

$$P = p \times s \quad (\text{A.26})$$

L'expérience consiste à disposer N_i cellules dans q boîtes. Parmi les cellules survivantes à l'irradiation, celles qui vont adhérer donneront des colonies (C_i colonies)

Les N_i cellules, considérées comme indépendantes vont donc suivre une loi binomiale de paramètres (P, N_i) .

Comme nous l'avons déjà démontré, un estimateur de P peut être posé sous la forme

$$Y(N) = \sum_{i=1}^q \alpha_i \frac{C_i}{N_i} \quad (\text{A.27})$$

Nous admettons que le plating efficiency ne dépend pas de l'irradiation, autrement dit qu'il est identique dans les boîtes témoins (0 Gy) et dans les boîtes irradiées. Il peut donc être déduit des boîtes témoins où $s = 1$ et $P = p$

Un estimateur de s pour une dose D est donné par

$$s_{estim}(D) = \frac{P_{estim}(D)}{P_{estim}(D=0)} \quad (\text{A.28})$$

De plus, puisque l'expérience à 0 Gy et l'expérience à D sont indépendantes alors l'erreur statistique relative sur l'estimateur de la survie est donné par

$$\frac{\sigma(s_{estim}(D))}{s_{estim}(D)} = \sqrt{\left(\frac{\sigma(P_{estim}(D))}{P_{estim}(D)}\right)^2 + \left(\frac{\sigma(p_{estim}(D=0))}{p_{estim}(D=0)}\right)^2} \quad (\text{A.29})$$

finalement d'après l'expression (Numéro) établie précédemment on peut écrire que

$$\frac{\sigma(s_{estim}(D))}{s_{estim}(D)} = \sqrt{\left(\frac{(1-P)}{P \sum_i N_i(D)} + \frac{1-p}{p \sum_j N_j(0)}\right)} \quad (\text{A.30})$$

A.4.1 Prise en compte de l'effet Feeder

L'effet feeder caractérise le fait que le phénomène d'adhérence des cellules est une fonction de la densité surfacique des cellulesensemencées. Cet effet est donc en contradiction avec les hypothèses utilisées pour estimer :

- Le plating efficiency avec plusieurs densités d'ensemencement et les barres d'erreurs associées.
- La survie cellulaire aux irradiations.

En effet, pour des raisons pratiques à haute dose d'irradiation, onensemence davantage en conséquence le plating efficiency devient dans certains cas différent voire très différent du plating efficiency à 0 Gy.

Nous avons estimé l'effet feeder en tracant le coefficient d'adhérence en fonction de la densité surfacique d'ensemencement. La densité surfacique est modifiée en ajoutant, dans les boîtes de cultures, des cellules préalablement irradiées à haute dose. Ensuite, nous avons corrigé les formules précédentes simplement en substituant le paramètre p par la fonction $p(N/S)$ où N est le nombre de cellulesensemencées et S est la surface de la boîte.